



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Efecto protector del champú conteniendo extracto
etanólico de corteza y brotes tiernos de *Colletia
spinosissima* J. Gmelin (TACSANA) sobre la irritación
inducida en piel de ratas**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con
mención en Farmacología Experimental

AUTOR

Salónida Beatriz HERRERA MATOS

ASESOR

Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Herrera S. Efecto protector del champú conteniendo extracto etanólico de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (TACSANA) sobre la irritación inducida en piel de ratas [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2017.

80

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO

1-68

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN FARMACOLOGÍA CON MENCIÓN EN FARMACOLOGÍA
EXPERIMENTAL**

Siendo las **09:00 hrs. del 31 de marzo del 2017** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por el Dr. José Roger Juárez Eyzaguirre e integrado por los siguientes miembros: Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (Asesor), Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel, Dra. Norma Julia Ramos Cevallos y el Mg. Luis Miguel Visitación Félix Véliz; para la sustentación oral y pública de la tesis titulada: **"EFECTO PROTECTOR DEL CHAMPÚ CONTENIENDO EXTRACTO ETANÓLICO DE CORTEZA Y BROTES TIERNOS DE *Colletia spinosissima* J. Gmelin (TACSANA) SOBRE LA IRRITACIÓN INDUCIDA EN PIEL DE RATAS"** presentado por la Bachiller en Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica **SALONIDA BEATRIZ HERRERA MATOS**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduando.

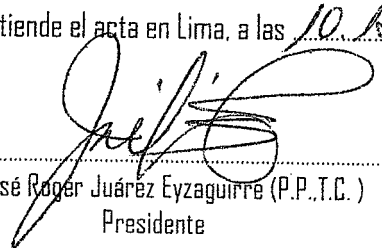
A continuación el Jurado Examinador y Calificador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

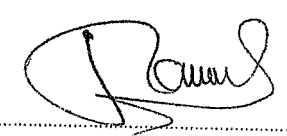
BUENO (16)

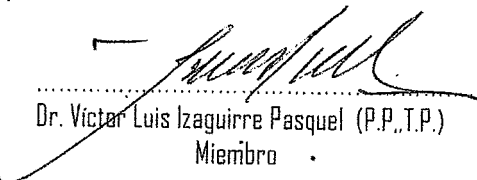
Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Bachiller en Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica **SALONIDA BEATRIZ HERRERA MATOS**, el Grado Académico de Magister en **Farmacología con Mención en Farmacología Experimental**.

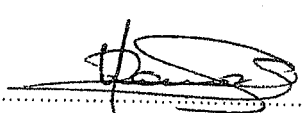
Siendo las **10:10** hrs. se levanta la sesión.

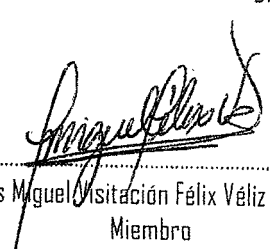
Se extiende el acta en Lima, a las **10:15** hrs. del 31 de marzo 2017.


Dr. José Roger Juárez Eyzaguirre (P.P., T.C.)
Presidente


Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (P.P., T.C.)
Miembro - Asesor


Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel (P.P., T.P.)
Miembro


Dra. Norma Julia Ramos Cevallos (P. Aux., T.C.)
Miembro


Mg. Luis Miguel Visitación Félix Véliz (P. P., T.P.)
Miembro

Observaciones:

DEDICATORIAS

A mi Dios
Jehová y mi
salvador Jesús.

A mi jefa la Virgen de
Fátima a sus pastorcitos
Jacinta, Francisco y
Lucía.

A mis amados padres Por
darme la vida Juanita y
Epifanio

A mis queridos hijos Jessica, Karin,
Martín y Miguel Ángel y a mi dulce
hermanita Gladys que está en el
cielo.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo por su perseverancia y excelente asesoramiento, brindarme las facilidades del laboratorio para ejecutar el trabajo de investigación:

A los miembros del jurado examinador y calificador. Por sus valiosas recomendaciones, paciencia y tiempo brindado durante la realización de la tesis.

Presidente: Dr. José Roger Juárez Eyzaguirre

Miembros: Dr. Víctor Izaguirre Pasquel

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo

Mg. Luis Miguel Visitación Félix Véliz

Dra. Norma Julia Ramos Cevallos.

Mi mayor reconocimiento y gratitud al laboratorio del Departamento de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Mayor de San Marcos. Por brindarme las facilidades para la realización de la tesis.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vi
SUMMARY	vii
I.INTRODUCCIÓN	
1.1. Situación problemática	1
1.2. Formulación del problema	2
1.3. Justificación de la investigación	3
1.3.1 Justificación teórica	3
1.3.2 Justificación práctica	3
1.4. Objetivos	4
1.4.1 Objetivo general	4
1.4.2 Objetivos específicos	4
1.4.3 Hipótesis y variables	
II. MARCO TEÓRICO	
2.1. Antecedentes	7
2.2. Bases teóricas	11
III. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1. Estudio experimental	28
3.2. Recolección de la planta Y preparación del extracto etanólico	29
3.3. Técnica de extracción de los metabolitos secundarios de <i>Colletia spinosissima</i> .	29
3.4. Inducción de la irritación de la piel de ratas	32
3.5. Evaluación de la actividad antioxidante in vitro mediante el DPPH	34
IV. RESULTADOS	36
V. DISCUSIÓN	48
VI. CONCLUSIONES	50
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
VIII. ANEXOS	59

INDICE DE CUADROS

		Pág.
1.	Marcha fitoquímica del extracto etanólico de <i>Colletia spinosissima</i> .	37
2.	Eficacia antiinflamatoria del extracto etanólico de <i>Colletia spinosissima</i>	39
3.	Estadística descriptiva se estudió peso y sexo de 30 ratas Holtzman .	45

N°

ÍNDICE DE FIGURAS

1.	Estructura molecular generalizada de saponinas	19
2.	Piel normal	23
3.	Resultado histológico de la lesión inflamatoria con la aplicación de la corteza y brotes tiernos de <i>Colletia spinosissima</i> 50 mg/Kg.	39
4.	Resultado histológico de la lesión inflamatoria con la aplicación de la corteza y brotes tiernos de <i>Colletia spinosissima</i> 250 mg/Kg.	40
5.	Resultado histológico de la lesión inflamatoria con la aplicación de la corteza y brotes tiernos de <i>Colletia spinosissima</i> 500 mg/Kg.	41
6.	Resultado histológico de la lesión inflamatoria en el grupo control.	42
7.	Resultado histológico de la lesión inflamatoria con la aplicación de champú comercial.	43
8.	Comparación de la actividad antioxidante mediante el reactivo DPPH del extracto etanólico de <i>Colletia spinosissima</i> J. Gmelin (tacsana)	44

RESUMEN

Objetivo. Evaluar el efecto protector del champú conteniendo extracto etanólico de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana), en la irritación inducida en la piel de ratas. Es un estudio experimental, desarrollado en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Mayor de San Marcos, Lima-Perú.

Material y Metodología: se utilizaron 30 ratas Holtzman (15 hembras y 15 machos), en un peso promedio de 142 - 100 g; asignados en forma aleatoria en cinco grupos de estudio: champú I 50 mg/kg, champú II 250 mg/kg, champú III 500 mg de *Colletia spinosissima*, champú comercial y champú base (control). En el extracto se determinó la presencia de metabolitos secundario: saponinas, taninos, flavonoides, alcaloides, carbohidratos. **Resultados:** *in vivo* se demostró la actividad protectora antiinflamatoria de la planta (50%), $p < 0,05$ y cicatrizante (50%) $p < 0,05$ en la piel de ratas, comprobado mediante estudios histológicos de la piel, y sin dermosensibilización, con la formación de fibras de colágeno; reparación de tejidos epiteliales y desaparición de los signos inflamatorios. *In vitro* se ha observado que la planta en 1 ug/mL induce una reducción del radical DPPH de 71,02%, comparativamente a vitamina C (27,53%) y al trolox (66,93%). **Conclusiones.** El extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* presenta efectos antiinflamatorios y cicatrizantes sobre la piel de ratas, siendo mejor en dosis de 500 mg/kg; es antioxidante *in vitro* con mayor actividad que vitamina C y Trolox; no presenta toxicidad en ratas.

Palabras Claves: actividad antiinflamatoria, actividad antioxidante, irritación inducida, saponina, tacsana, efecto cicatrizante, *Colletia spinosissima*, DPPH

SUMMARY

Objective: To evaluate the protective effect of shampoo containing ethanolic extract of *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana) for skin irritation induced in rats. It is an experimental study, developed in the laboratory of Pharmacology of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of San Marcos, Lima-Peru. **Material and Methods:** Thirty Holtzman rats (15 females and 15 males) were used, weighing approximately 142-100 g; randomized into five study groups: shampoo I 50 mg / kg, shampoo II 250 mg / kg, shampoo III 500 mg of *Colletia spinosissima*, commercial shampoo and shampoo base (control). The presence of secondary metabolites saponins, tannins, flavonoids, alkaloids, carbohydrates in the extract was determined. **Results:** *In vivo* protective activity anti-inflammatory plant (50%), $p < 0.05$ and healing (50%) $p < 0.05$ in the skin of rats, histological studies demonstrated through the skin was demonstrated, without dermosensibilization, with the formation of collagen fibers; repair of epithelial tissues and disappearance of inflammatory signs. *In vitro* has been observed in the plant 1 μg / mL induces a reduction of 71.02% DPPH radical, comparatively to vitamin C (27.53%) and trolox (66.93%). **Conclusions:** It has demonstrated the anti-inflammatory and cicatrizing effect *Colletia spinosissima* ethanolic extract of skin irritancy in rats, being better in doses of 500 mg / kg; an antioxidant *in vitro* with higher activity than vitamin C and Trolox; no toxicity in rats.

Key words: antiinflammatory activity, antioxidant activity, induced irritation, saponin, tacsana, healing effect, *Colletia spinosissima*, DPPH

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Situación problemática

A la fecha el resurgimiento de la medicina natural a base de extractos de plantas medicinales, utilizadas con el propósito de solucionar diferentes enfermedades, nos motiva a estudiar e investigar un sin número de especies nativas presentes en nuestro país, las cuales forman parte de la gran biodiversidad, favorecida por los diferentes ecosistemas de las regiones del Perú. Muchas de estas especies vegetales han sido utilizadas por años como parte de la medicina tradicional, sin mayor respaldo científico. Esta realidad nos impulsa a investigar sobre aquellos metabolitos secundarios responsables de las propiedades curativas de estas especies, con el conocimiento de la fitoquímica y la farmacología; de esta forma podemos determinar los principios activos, rutas metabólicas de biosíntesis, degradación y mecanismos de regulación. Obtenidos estos conocimientos queda abierta la posibilidad de industrialización de muchos recursos naturales (Kvist, L.; y col. 2001).

El avance de la química orgánica, la biología molecular y otras ciencias aplicadas, y los diferentes métodos espectroscópicos y espectrofotométricos que actualmente se usan, ha dado lugar al desarrollo de la investigación científica multidisciplinaria, sobre todo para el estudio de los principios activos de las plantas y con acción terapéutica. (Soler, y col. 1997). Los metabolitos secundarios de las plantas medicinales son responsables de algunas “propiedades curativas” que en la medicina tradicional se les atribuye, y constituyen un gran potencial de reserva inexplorada de utilidad al hombre, durante los últimos decenios, el interés de las poblaciones por las terapias naturales, ha aumentado enormemente en los países industrializados, y se halla en expansión el uso de plantas medicinales y medicamentos herbarios. (Van Ginkel, 2003).

La medicina etnobotánica popular ha utilizado este tipo de terapias, tradicionalmente machacando las hojas de las plantas y preparando una pasta y la aplicaban en forma de cataplasma en la zona afectada, recuperándose la salud con este procedimiento. Su administración y prescripción ha ocasionado el incremento de la demanda nacional e internacional por la “medicina natural” aumentando considerablemente en todos los estratos sociales. (Toso R.; y col.1985). Los correspondientes estudios fitoquímicos revelaron la presencia de saponinas y demás compuestos con actividad protectora sobre la irritación inducida en piel. (Isaza J. 2007)

Colletia spinosissima J. Gmelin (Tacsana)) es utilizada en países como Chile, Argentina, Bolivia, Perú y Ecuador como remedio cicatrizante (Sánchez, 1982).

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto del champú de extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima J. Gmelin* (Tacsana) sobre la irritación inducida en la piel de ratas?

1.3. Justificación de la Investigación

1.3.1 Justificación teórica

Principalmente, éste trabajo de investigación, da aportes acerca de los usos y aplicaciones de la corteza y brotes tiernos de *Colletia Spinosissima J. Gmelin* en la irritación inducida en la piel de ratas; así, también la inquietud de buscar nuevos medicamentos que no producen reacciones adversas, además de los beneficios que ésta trae en el campo dermatológico. El interés por la medicina natural ha aumentado en países industrializados por su bajo costo, valor clínico, farmacéutico y alternativa natural, como es el caso de *Colletia Spinosissima J.Gmlin* (Tacsana).

¿Será más efectivo el cuidado convencional que se brinda sobre la irritación inducida en piel de ratas, o aplicación de un extracto etanólico preparado en forma de champú de la corteza y brotes tiernos de *Colletia Spinosissima*? Pregunta planteada que fue el motor que nos impulsó a plantearnos el siguiente problema de investigación. Las plantas medicinales son importantes para la investigación farmacológica y la síntesis de nuevos principios activos, porque éstos son los responsables de la actividad farmacológica. Por consiguiente, la reglamentación de la explotación y la exportación, junto con la cooperación y la coordinación internacionales, son esenciales para su conservación a fin de asegurar su disponibilidad para el futuro. (Osuna, L.; y col. 2006)

1.3.2 Justificación práctica

Se desea comprobar si, champú de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (Tacsana) produce efecto protector sobre la irritación inducida en piel de ratas, permitiendo detectar la acción protectora para un mejor tratamiento de la piel irritada. La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de *droga vegetal*, y puede suministrarse bajo diferentes formas galénicas: cápsulas, comprimidos, crema, decocción, elixir, infusión, jarabe, tintura, ungüento.

Muchos de los fármacos empleados hoy en día, como opio, quinina, aspirina o digital, replican sintéticamente o aíslan los principios activos de moléculas iguales, presentes en productos vegetales tradicionales, usados incluso en épocas prehistóricas, aún sin conocimiento de sus principios activos; es el caso del ácido salicílico el cual se extrae de la corteza del sauce. Nos interesa conocer las bondades y principios activos de la corteza y brotes tiernos *Colletia spinosissima* (tacsana)

1.4. Objetivo

1.4.1. Objetivo general

Determinar la actividad protectora del champú con extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima J. Gmelin* (tacsana) en la irritación inducida sobre la piel de ratas.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto protector del champú de *Colletia spinosissima* en diferentes concentraciones 50, 250 y 500 mg/kg sobre la irritación inducida en la piel de ratas Holtzman.
2. Identificar los metabolitos secundarios relacionados a la actividad protectora del champú de la corteza y brotes tiernos *Colletia spinosissima J. Gmelin* (tacsana).
3. Determinar el efecto antioxidante *in vitro* mediante el ensayo de captación del radical 2,2- difenilpicril-1-hidracil (DPPH), de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima J. Gmelin* (tacsana).
4. Comparar el efecto protector del champú de *Colletia spinosissima J. Gmelin* (tacsana) sobre la piel en ratas Holtzman, frente al efecto de un champú comercial.

1.4.3. Hipótesis y variables

Hipótesis

El champú formulado con el extracto alcohólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima J.Gmelin* (tacsana) produce efecto protector y permite la recuperación de la piel irritada en ratas *Holtzman*.

VARIABLES

Variable independiente

Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia Spinosissima J. Gmelin* (tacsana)

Indicadores

Dosis del extracto: 50 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg

Variable dependiente

Actividad protectora del extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima J, Gmelin* (tacsana).

Indicadores

Inflamación, enrojecimiento en la zona de estudio, formación de fibras de colágeno, presencia de costra y cicatrización.

II. MARCO TEÓRICO

- ❖ La práctica de la fitoterapia es casi tan antigua como el hombre y la más probada del mundo. De forma obligada, los individuos y sociedades prehistóricas mantenían un fuerte contacto con la naturaleza la cual, al principio, de una forma accidental repercutía negativamente en el hombre, ya fuera por la ingesta de plantas tóxicas o venenosas, etcétera. Estas situaciones pasaron a formar parte de la experiencia de las comunidades antiguas que hacían eco del daño causado pero también, y del mismo modo de forma accidental, en el más de los casos azarosa, comprendían que la naturaleza era fuente de sustancias con propiedades curativas. (Flores, R.1997)

Los primeros documentos escritos, que nos hablan acerca del uso de las plantas medicinales, los encontramos con una antigüedad de unos 4000 años A.C. Tenemos también los ideogramas de los Sumerios escritos 2500 años A.C. donde encontramos descripción de plantas usadas con fines medicinales. En el código de Hamurabi, 2000 años A.C, encontramos cómo los babilónicos usaban ya muchas plantas para restaurar su salud; entre éstas tenemos: menta, sen, beleño, ajo, adormidera, cáñamo, etc. Los egipcios y los griegos también dejaron documentos donde se comprueba el uso de los productos naturales en la salud. También se sabe cómo en la India se han usado las plantas medicinales (Branch, L., Da Silva, I.M.F. 1983)

Aunque en muchas regiones antiguas y aún recientes se ha visto cómo el uso de las plantas medicinales ha estado asociado a ritos mágicos y religiosos como es evidente en algunos libros, manuscritos que han dejado culturas ancestrales, de todas maneras hay que destacar que este uso ha estado basado en el buen conocimiento de las plantas, adquirido por la experiencia y transmitido de padres a hijos por muchas generaciones. (Hommond, G., y col. 1998).

Tenemos antecedentes de investigación de otros autores con estudios similares con otras plantas que están relacionados con el trabajo de investigación.

Un estudio de los metabolitos secundarios bioactivos reporta que los flavonoides son responsables de la actividad antiinflamatoria (Torres, M.2004)

Se dispone de datos sobre la seguridad y eficacia de un número aún menor de plantas, sus extractos y principios activos y las preparaciones que las contienen. (Colmenares A., Ramírez A. 2001). Los controles legislativos sobre plantas medicinales no han evolucionado según un modelo estructurado de control. Hay diferentes maneras por las cuales los países definen las plantas o hierbas medicinales o los productos derivados de las mismas, y han adoptado diversos enfoques en la autorización, expendio, fabricación y comercialización para asegurar su inocuidad, calidad y eficacia.

La Convención de las Naciones Unidas sobre la Diversidad biológica declara que la conservación y el uso sostenible de la diversidad biológica revisten importancia crucial para satisfacer las necesidades de alimentos, de salud y de otra índole de la creciente población mundial, para lo cual son esenciales el acceso a los recursos genéticos y la tecnología, así como el intercambio de los mismos. (Kuklinski, C.2003)

2.1. Antecedentes de investigación

Giraldo, L.; y col. (2003), aplicando el modelo de Yamada *et al*, (1993) demostraron que la uña de gato contiene 1,33% flavonoides totales (expresado en rutina), y que estos evidenciaron una marcada reducción de la inflamación. Los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa* Willd DC fueron aislados por cromatografía y cuantificados

espectrofotométricamente con el fin de evaluar la actividad antinitrosativa *in vitro* y la actividad antiinflamatoria en el modelo experimental de inflamación intestinal crónica propuesta por Yamada *et al.* (1993). La acción antinitrosativa *in vitro* fue determinada por el reactivo de Griess. Para la actividad antiinflamatoria, los flavonoides fueron administrados a ratones via oral diariamente (dos veces). El grupo de ratones tratado con flavonoides presentó menor porcentaje de disminución de peso con respecto al grupo que no lo recibió; esta diferencia fue significativa ($p < 0,05$) a partir del sétimo día de tratamiento, así como mayor integridad en la arquitectura de la mucosa. En conclusión, los flavonoides totales de las hojas de *U. tormentosa* presentaron poca actividad antinitrosativa *in vitro* dependiente de la concentración, y el grupo tratado con flavonoides presentó reducción de la inflamación intestinal y mayor integridad de la mucosa.

Soriano, M.; y col. (Lima 2004), buscando determinar la actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed, realizaron la elucidación estructural mediante espectroscopia ultravioleta-visible y reacciones químicas, compuestos fenólicos tipo flavonoides, derivados del núcleo flavonona (5,7-dihidroxi-4,6,8 trimetoxiflavanonona, 3,5-dihidroxi-4-metoxi-7-O-rhamnoglucosyl flavononona) y una chalcona (5,4-dihidroxichalcona). Al evaluar la actividad cicatrizante del extracto etanólico al 20% en forma de crema, de acuerdo al método tensiométrico, observaron que los niveles de resistencia a la tensión por el uso del extracto etanólico del *Senecio culcitoides* weed presentó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) comparado con el control que fue crema base cetiol-lanette 6% y como estándar sangre de grado al 1% hallazgos que fueron verificados por estudios histológicos.

Pérez, A.; y col. (2009), investigaron la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estimulación de la proliferación de fibroblastos. Prepararon extractos hidroalcohólicos de *Bixa Orrellana* (achiote), *Eupatorium triple nerve* (asmachilca), *Physalis peruviana aguaymanto*) y *Equisetum arvense* (cola de caballo) Y ensayaron sobre la proliferación de cultivos primarios de fibroblastos; se evaluó también la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles y flavonoides. Sus resultados indican que mayor capacidad antioxidante correspondía a *Bixa orellana* mayores concentraciones de polifenoles y flavonoides. Todas las plantas estimularon diferencialmente la proliferación de fibroblastos, *Equisetum arvense* presentó mayor estimulación, pero baja capacidad antioxidante y bajos contenidos de polifenoles y flavonoides; mientras que *Bixa orellana* y la *Physalis peruviana* estimularon moderadamente; correspondiendo la más baja estimulación de la proliferación de fibroblastos a *Eupatorium triple nerve*.

Ackerman, B.; y col. (2009), en su estudio investigaron las acciones antiinflamatoria y analgésica de estas plantas nativas de la región pampeana Argentina. El polvo del extracto de *Salpichroa organifolia* logrado luego de una extracción metabólica, mostró mayor actividad antiinflamatoria en ratones utilizando el test de la carragenina. También se evaluó la toxicidad determinando que la administración prolongada no produce lesiones gástricas ni alteraciones histopatológicas en estómago, hígado, riñón y cerebro. Evaluando la importancia de estos resultados en el comportamiento farmacológico del polvo, se comparó el efecto antiinflamatorio del extracto con los AINES más usados en la práctica veterinaria para determinar su potencial empleo como fitofármaco. Utilizando el test de la carragenina en ratones, se determinó a las 5 horas pos administración una reducción de 49% del edema plantar, respecto al grupo control, con polvo de *Salpichroa organifolia* , 44 % con relación a ácido acetil salicílico (ASA), 67 % con relación a fenilbutazona, y 59 % frente a indometacina, considerada la droga de referencia en la investigación de

antiinflamatorios. El efecto analgésico se evaluó utilizando el test de las contorsiones inducidas por ácido acético en ratones. La disminución en el número de contorsiones con polvo fue 49%, superior a la fenilbutazona (41 %) y comparable al ketoprofeno y ASA (54 y 52 %). Concluyeron que el polvo tiene actividad antiinflamatoria comparable al ASA. La acción del polvo tiene un período más prolongado que fenilbutazona y como analgésico es superior a esta y ligeramente menor que ketoprofeno. Teniendo en cuenta que en estos estudios el polvo de no mostró evidencias de toxicidad, y que posee una acción antiinflamatoria y analgésica comparable con AINES como el ASA, resultaría interesante realizar en el futuro estudios clínicos para determinar la utilidad de este extracto como fitofármaco, antiinflamatorio y analgésico.

En el presente estudio, trataremos de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima*, a la que se le atribuye muchas propiedades medicinales como la actividad protectora en la piel, hemólisis de los glóbulos rojos. En Latinoamérica también se han desarrollado varios estudios sobre la actividad protectora de *Colletia spinosissima*, en otros países como Argentina, Chile, Nicaragua y México se han desarrollado estudios con fines estrictamente medicinales. Las saponinas tienen un amplio rango de propiedades biológicas, tales como antiinflamatorio y cicatrizante de gran interés para la industria farmacéutica por ser precursoras en la síntesis de hormonas y corticoides (Fernández, H.; y col. 1993).

En cuanto a su composición química se han encontrado metabolitos como flavonoides, saponinas, glicósidos, entre los que se encuentran principalmente la glucosa, rhamosa, galactosa y xilosa (Ferreira, 1979).

2.2. BASES TEÓRICAS

Fitoterapia

La fitoterapia (del griego *fyton*, 'planta', 'vegetal' y *therapeia*, 'terapia'), conocida también como herbolaria (del latín *herba*, 'hierba') es la práctica del uso extractivo de plantas medicinales o sus derivados con fines terapéuticos, para prevención o tratamiento de patologías. Una traducción etimológica da a entender que se trata de una "terapéutica con plantas", no obstante esta escueta traducción da poco realce al objeto de esta ciencia, pues matizando el concepto se entiende por fitoterapia como práctica", y como tal, realiza un estudio cuyo objeto es todo material de origen vegetal con utilidad o finalidad terapéutica; siendo propio de la terapéutica, la prevención, atenuación o curación de un estado patológico (Brack, 1999).

La materia prima vegetal de la que hace uso, sometida a los procedimientos galénicos adecuados permite obtener lo que se conoce como fitofármaco. La fitoterapia pertenece al ámbito de la medicina, se relaciona estrechamente con la botánica y el estudio del metabolismo secundario vegetal, es ejercido por médicos y por Fito terapeutas. Los Químico Farmacéuticos tienen su aproximación a la fitoterapia en la farmacognosia, que da cuenta de los constituyentes químicos de la planta o de sus órganos y de las propiedades farmacológicas de ésta. La fitoterapia moderna, se basa en el conocimiento de la farmacología, considera los aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticas de los productos basados en plantas medicinales, en estudios preclínicos y clínicos, aunque tiene su punto de origen en el conocimiento ancestral la experiencia de prueba y error heredados de las pasadas generaciones. El uso de plantas como recurso terapéutico natural se remonta a tiempos muy remotos. (Ríos, C. 2008)

Hoy en día la ciencia confirma la presencia de éstos compuestos químicos con acciones farmacológicas, denominados principios bioactivos, que constituyen muchas veces los ingredientes primarios utilizados por laboratorios farmacéuticos como punto de partida en el desarrollo de formas comerciales que serán patentadas para su uso terapéutico. Pero también se pueden usar los recursos vegetales con propiedades medicinales para la preparación de extractos estandarizados de plantas o de sus órganos o partes y son denominados fitofármacos. Los fitofármacos alcanzan un papel relevante en la terapéutica moderna y pueden ser utilizados con fines preventivos o de tratamiento de las más diversas patologías y basado en lo que se conoce como la medicina basada en evidencia. Los fitofármacos incluyen aquellos extractos estandarizados producidos a partir de la totalidad de una planta o de sus partes u órganos. (Lock de Ugaz, 1994).

Se incluye como material o droga vegetal a plantas terrestres y también a las algas; siendo la tendencia, en la fitoterapia actual, recomendar o prescribir productos estandarizados; es decir, que nos aseguren cierta cantidad de principios activos que sepamos que van a ser efectivos. De nada nos sirve prescribir una droga sin saber si está correctamente cuantificada en aquellos sustancias que terapéuticamente son efectivos (Palacios, V.1997).

Las saponinas de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana) son de naturaleza esteroidal y por hidrólisis de estos se obtienen las sapogeninas esteroides que son de gran interés para la industria farmacéutica por ser sustancias esteroidales, componentes de hormonas sexuales y corticoide de gran interés comercial, usados como anticonceptivos y se consideran productos de transformación, cuya materia prima es de origen vegetal, siendo *Colletia spinosissima* poseedoras de estas sustancias. (Gómez, H.; col. 2011).

Las plantas que contienen saponinas han sido utilizados hace cientos de años en el lavado de ropa y fabricación de jabón por este rico contenido en saponinas. *Colletia spinosissima*, tacsana, palo de jabón, espino negro, barba de tigre, de la familia Rhamnaceae es un género botánico de fanerógamas; todas son nativas del Perú, Bolivia, Brasil, Chile, Uruguay. La corteza y brotes tiernos son ricos en saponinas, por ello es utilizado en el lavado de ropa e higiene sustituyendo al jabón; también es usado por las mujeres en menstruaciones dolorosas (Parodi, A.1881).

En el Perú se usa en forma de jabón, leña y carbón de alto poder calorífico, fertilizante natural del suelo (especie nitrificante) por su simbiosis con *Frankia* (Gauthier, D.1984). Especie vegetal con abundante triterpenoide (Pacheco, P.1973).

Los principios activos de las plantas medicinales

Los principios activos son sustancias que se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal. La investigación científica ha permitido descubrir una variada gama de principios activos de *Colletia spinosissima* J.Gmelin (tacsana), de los cuales los más importantes desde el punto de vista de la salud, son saponinas, aceites esenciales, alcaloides, glucósidos o heterósidos, mucílagos y gomas, y taninos. (Cabrera, A. 1953)

Existen en las plantas otros principios activos relevantes denominados nutrientes esenciales, como las vitaminas, minerales, antioxidantes, aminoácidos, carbohidratos y fibras, azúcares diversos, ácidos orgánicos, lípidos y los antibióticos. Estos principios activos se clasifican, según su estructura química, en grupos:

- *Heterósidos*: cianogénicos; antraquinónicos, cumarínicos, fenólicos, flavónicos, ranunculósidos, saponósidos, sulfurados.
- Alcaloides

- *Terpenoides*: iridoides; aceites esenciales; lactonas; saponinas; diterpenos.
- *Polifenoles*: ácidos fenólicos; flavonoides; cumarinas; taninos; lignanos; quinonas. (Murillo, E.; y col. 2007)

Heterósidos. Glucósidos o heterósidos, son compuestos que están formados por dos partes: un azúcar (glucosa) y aglicón o genina. El enlace entre ambas es hidrolizable y debe romperse para que se active el compuesto; esta ruptura es catalizada por fermentos que contiene la misma planta. Se clasifican de acuerdo a las características estructurales de la parte no-azúcar o aglicón, su nombre termina en –ósido, aunque algunos conservan su nombre tradicional terminando en –ina (por ejemplo, digitoxina). Constituyen los principios activos de muchas plantas y su actividad farmacológica se debe fundamentalmente a la parte no glucídica. Los más importantes son cianogénicos, antraquinónicos y los cumarínicos. También los fenólicos, ya que es en este grupo en el que se encuentra la salicilina, precursora del ácido acetil salicílico, o aspirina. Los glicósidos desempeñan papeles importantes en el organismo. Muchas plantas almacenan químicos en forma de glicósidos inactivos; si estos, se hidrolizan en presencia de agua y una enzima generando azúcares importantes en el metabolismo de la planta. Muchos glicósidos de origen vegetal se utilizan como medicamentos, la planta que contienen estos compuestos son especies vegetales que pueden utilizarse como laxante, generalmente se encuentra en forma heterosídica como la glucosa o ramnosa. (Kao, T.; y col. 2008).

Heterósidos cumarínicos. La cumarina es un aromatizante. Tienen propiedades vitamínicas, disminuyen la permeabilidad capilar y aumentan la resistencia de las paredes capilares (protegen la fragilidad capilar y actúan como tónico venoso). Algunos tienen propiedades sedantes, como la angelicina y pueden tener propiedades hipnóticas. En la genciana encontramos la amarogenciana. Por ser amargos son estimulantes del apetito y digestión, excitan las papilas linguales;

actúan por vía refleja en el estómago, aumentando la motilidad, favoreciendo el aumento de secreciones. Está contraindicada en la lactancia ya que los principios activos pasan a la leche materna (Ramos, G.; y col.2000).En la corteza del castaño de indias también se encuentra, tanto como en las semillas y tienen acción similar, pero los principios activos son diferentes; la única que tiene cumarinas es la corteza. (Litter, M. 1986)

Vitamina C (Ácido ascórbico).

Se encuentra bajo la forma de ascorbato, distribuido intra y extracelularmente. Reacciona en forma directa con los radicales libres (RL) superóxido, hidroxilo y varios hidroperóxidos lipídicos. Hay investigaciones que sugieren que su acción antioxidante contra el estrés oxidativo de la mucosa gástrica puede deberse a la vitamina C, al ser un potente antioxidante soluble en agua atrapa y neutraliza una variedad de especies reactivas del oxígeno, como hidroxilo, alcoxilo, peroxilo, anión superóxido, radicales hidroperóxilo y radicales reactivos del nitrógeno a concentraciones muy bajas; además puede regenerar otros antioxidantes como el alfatocoferoxilo y el beta-caroteno a partir de sus especies radicales. Otros estudios han demostrado que el ácido ascórbico es además inhibidor de la nitrosación con potencial importancia como eliminador de nitritos *in vivo*, permite disminuir los riesgos de aparición de cáncer de estómago y esófago, aumenta la función inmunológica al aumentar las células natural Killer y la función de los linfocitos T y B, inhibe el crecimiento de distintas células de melanoma humano e induce apoptosis en células leucémicas promielocíticas HL-60 y en fibroblastos de seres humanos, combate el cáncer al promover la síntesis de colágeno y prevenir así que los tumores invadan otros tejidos; y se ha sugerido que un complemento diario de 1 g de vitamina C podría proteger a las personas contra la mutagénesis inducida por la quimioterapia (Céspedes, T.; y col. 2000).

Polifenoles. Son sustancias que tienen un núcleo bencénico que soporta un grupo hidroxilo. Se suelen unir a azúcares para formar heterósidos pero también se pueden encontrar libres. Van desde sustancias muy simples, hasta muy complejas como ligninas y taninos. Los grupos más importantes de este grupo son los ácidos fenólicos o fenoles, cumarinas, flavonoides, lignanos, taninos y quinonas. (Benites, 2006)

Ácidos fenólicos. Son aril-carboxílicos, con uno o más grupos OH en el arilo. Sus acciones farmacológicas y aplicaciones son diversas, como antioxidantes, analgésicos, coleréticos etc. El eugenol por ejemplo es un antiséptico y anestésico local empleado en odontología. Entre los fenoles en estado libre, se encuentran constituyentes importantes de las esencias, como timol y su isómero carvacrol. En la esencia de tomillo muchos muchos de los fenoles están en estado de éter oxidado entre ellos estragol, miristicina, apiol, y atenol. (Jain, S. 1991)

Flavonoides. Son pigmentos amarillos derivados de la fenil-benzo y pirona o fenil cromona; abundantes en el reino vegetal, normalmente en forma de heterósidos. Tienen una estructura molecular del tipo C6 – C3 – C6; con muy diversos compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos solubles en agua. Existen 6 clases principales: chalconas, flavonas, flavonoles, antocianidinas, taninos condensados, y otras dos más, xantonas y auronas. (Hein, K.; y col. 2002)

Antioxidantes indispensables para la salud

En los últimos años ha cobrado interés, el estudio de la actividad biológica de los polifenoles y en especial la evaluación de la capacidad antioxidante asociada a ella. Los polifenoles en vegetales, frutas y té pueden prevenir enfermedades degenerativas, incluyendo cánceres, con la acción antioxidante. Se ha comprobado también su capacidad para actuar como donadores de hidrógenos o que, los iones metálicos

como hierro y el cobre, inhibían la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), los cuales están implicadas en la patogénesis de la enfermedad coronaria. (Hertog, M.1993). Cabe mencionar que algunos polifenoles (como aislados de té) inhiben la oxidación de las LDL *in vitro* (Riemersma *et al.* 2001). En experimentos *in vitro*, también se ha confirmado el papel protector de la quercetina, la cual ejerce efecto de inhibición frente a células cancerígenas del colon, en humanos (Ranelletti, F.; y col. (1992). Los polifenoles también demuestra actividad de vaso regulación y antialérgica (Sakakibara, H.; y col. 2003).

Cumarinas. Son benzo – α – pironas; incluyen a un grupo muy amplio de principios activos fenólicos que se encuentran en plantas medicinales y tienen en común una estructura química de 2H-1-benzopiran-2-ona, denominada cumarina. Sobre esta estructura se disponen sustituyentes de distinta naturaleza química lo que da lugar a distintos tipos de cumarinas sencillas y complejas.(Podsedk, A. 2007).

Lignanós. Son moléculas cuya estructura resulta de la unión de 2 unidades del fenil propano (C6 – C3). Son muy abundantes en el reino vegetal. Por ejemplo, la podofilotoxina, se encuentra en el rizoma del podófilo (*Podophyllum peltatum*) y es precursora de dos sustancias (etopósido y tenipósido) empleadas en terapia antitumoral. También silimarina, que es hepatoprotectora y se obtiene del cardo mariano (*Silybum marianum*). (Sangrera, 1993)

Taninos. Son sustancias complejas que no es posible clasificar dentro de una estructura química única, polifenólicas hidrosolubles no nitrogenadas, de origen vegetal, de peso molecular entre 500 y 3000 Dalton que además de dar las reacciones clásicas de los fenoles, precipitan a las proteínas, sales de alcaloides y metales pesados. El tanino se encuentra principalmente en las raíces, la corteza, y de vez en cuando en las hojas de la planta. Estos compuestos tienen propiedades antibacterianas, astringentes y antisépticas. Se

encuentran especialmente en las familias de las Ericáceas, Leguminosas, Rosáceas y Salicáceas. (Pengelly, A. 1996)

Quinonas. Son dicetonas aromáticas procedentes de la oxidación de fenoles. Hay varios tipos:

- Parabenzoquinonas: derivadas del benceno. Muy activas (antimicrobianas, antifúngicas)
- Naftoquinonas: derivadas del naftaleno, (antibacterianas y antifúngicas)
- Antraciclinoas: Derivadas del naftaceno. Constituyen el núcleo de antibióticos muy importantes como la daunomicina y la doxorubicina, y las tetraciclinas.
- Antraquinonas y fenantraquinonas: derivadas del antraceno y el fenantreno, son principios activos laxantes y purgantes, en sus formas de heterósido (Green, 2007)

Lactonas sesquiterpénicas. Se encuentran abundantemente en la familia Compuestas, Lauraceas y Magnoliaceas; son responsables del sabor amargo de muchas drogas como el cardo santo (*Cnicus benedictus*), el ajeno (*Artemisia absinthium*) o el diente de león (*Taraxacum officinale*). (Brack, A.1999). Tienen actividad antibacteriana y antifúngica. Algunas producen dermatitis en la piel ya que inducen la formación de alérgenos.

Saponinas. Son compuestos que poseen una estructura compleja, formada por un núcleo esteroidal hidrofóbico y una parte hidrófila constituida por unidades de monosacáridos. Están ampliamente distribuidas en el reino vegetal y aunque en mayor o menor medida se encuentran en gran cantidad de plantas, son especialmente abundantes en algunas familias, entre ellas la Agavaceae y las Rhamaceae. Las saponinas tienen un amplio rango de actividades biológicas tales como su acción antimicótica, antiviral, antiinflamatoria, antitrombótica y diurética, las saponinas esteroides se pueden reconocer fácilmente en análisis fitoquímico preliminares mediante

ensayos de espuma en soluciones acuosas, hemólisis de glóbulos rojos, Lieberman – Burchard. (Martinez, A. 2001)

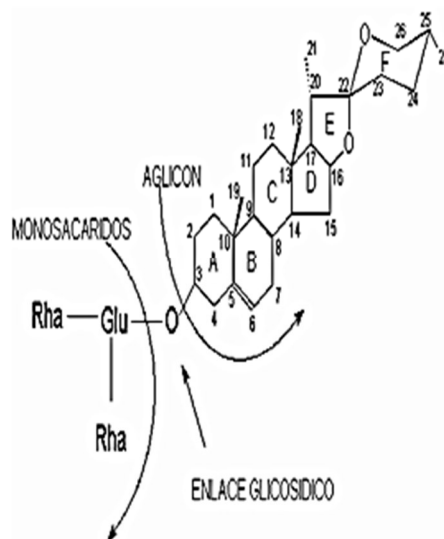


Figura N° 1. Estructura molecular generalizada de saponinas

Fuente: Martinez, A. 2001

Alcaloides. Grupo de metabolitos secundarios de mayor interés en la farmacognosia, dentro del cual se encuentran sustancias tóxicas, incluso a bajas dosis. El conocimiento de los alcaloides naturales ha progresado con el desarrollo de nuevas técnicas de separación y determinación. En 1930 se aislaron más de 300 y se determinó la estructura de 200; en 1950 se aislaron más de 1000; en 1973 entre 5000 y 6000. (Planas, M.1984)

En el presente estudio de investigación de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (Tacsana), especie, a la que se atribuye muchas propiedades medicinales, dentro de lo cual se busca demostrar su actividad protectora en la irritación inducida sobre piel de ratas. *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana) es un arbusto espinoso, de hojas caducas, arbusto de crecimiento lento a 3,5 m de altura en la familia Rhamnaceae. Como el resto de las especies de este género, que es nativa de América del Sur, que tiene una amplia distribución de Ecuador a Uruguay. Tiene un desarrollo derecho; en la parte inferior

por lo general muestra un tallo desnudo, mientras que hacia la parte superior se ensancha para formar la corona. En verano se asume una coloración verde-morado. Ramillas son estriadas, con espinas largas y simples, en forma de punzón. Las puntas son de color más oscuro, a veces marrón, y muy picante. Hojas sólo se encuentran en las ramas más jóvenes. (Gmelin J. 1791). Ellos son oblongo-ovadas, lisa, entera o ligeramente dentado hacia el ápice. Las flores se disponen en brotes cortos compactos hasta 55 flores. Estos son actinomorfos, 5-numerosas, con un tubo floral blanco, rosado, amarillento o verdoso hasta 7 mm de largo. El cáliz es cilíndrico con cinco dientes. Los filamentos son cortos o doblado hacia abajo. Cinco sépalos deltoides (1,5-3 mm de longitud) se encuentran en el borde del tubo floral. Los cinco estambres son alternan con los sépalos y anteras situados en la desembocadura del tubo floral. Un disco nectarífero está cerca de la parte inferior del tubo. El pistilo y el estigma de un terminal tres-lobulado son a nivel de las anteras. La floración se produce de abril a junio, el fruto es una cápsula de tres válvulas, de 4-5 mm de diámetro. *Colletia spinosissima* crece bien en la agreda arenosa, florece libremente en un lugar soleado. (García, L.; y col. 2002).

Es usado como combustible localmente. Contiene dos alcaloides cuaternarios benzyltetrahydroisoquinoline: D-magnocurarina $C_{10}H_{25}NO_4$ y D- colletina $C_{20}H_{26}NO_4$:D-(-)-1-(4metoxibencil)-2,2-dimetil-6-metoxi-7-hidroxi-1,2,3,4- tetrahydroisoquinoline ambas son principios amargos. Crece a una altitud de 3500 msnm en el distrito de Manta, Departamento de Huancavelica-Perú. La planta en estudio es usada por los lugareños en el lavado de cabello y prendas de vestir por su abundante saponina. La Rhamnaceae es una familia del orden de los rhamales.

Trolox

Es un antioxidante como la vitamina E y se utiliza en aplicaciones biológicas o bioquímicas para reducir el estrés oxidativo o daño celular.

Las reacciones entre el Trolox y varios radicales libres oxidantes incluyendo los radicales peroxi y varios radicales hidroxilo se examinaron mediante el uso de la técnica de pulso-radiólisis, demostrando que el Trolox puede someterse a reacciones rápidas de transferencia de electrones, así como los procesos de transferencia de hidrógeno; el radical fenoxilo resultante demuestra ser relativamente estable, en común con el radical fenoxi derivado de la vitamina E. Las reacciones entre el Trolox (radical fenoxilo) y una variedad de compuestos reductores biológicamente pertinentes se examinaron mediante el uso de radiolisis pulsos (métodos espectroscópicos). Los resultados evidencian que el Trolox (radical fenoxilo) se repara fácilmente por el ascorbato y ciertos tioles, pero no por urato, NADH o galato de propilo. Las pruebas evidencian que el Trolox repara proteínas que se han oxidado por radicales libres. (Pellegrini, N.; y col. 2003)

La Piel. Es el mayor órgano del cuerpo humano o animal. Ocupa aproximadamente 2 m², su espesor varía entre los 0,5 mm (en los párpados) a los 4 mm (en el talón); su peso aproximado es de 5 kg. Actúa como barrera protectora que aísla al organismo del medio que lo rodea, protegiéndolo y contribuyendo a mantener íntegras sus estructuras, al tiempo que actúa como sistema de comunicación con el entorno, y éste varía en cada especie. Anatómicamente se toma como referencia las medidas estándares dentro de la piel humana. También es conocido como sistema tegumentario: la epidermis, pelos, glándulas y uñas de naturaleza conjuntiva, y el tejido graso subcutáneo. Todas ellas, menos la epidermis y los anexos, tienen una rica inervación nerviosa y vascular (Mosquera, J.; y col.1996).

La medicina, considera en su estudio histoanatómico y dermatológico, dos capas, para los fines prácticos, la epidermis y la dermis (Figura N 2). De la piel también dependen ciertas estructuras llamadas anexos cutáneos como pelos, uñas, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas.

Está compuesta de corpúsculos de Meissner presentes en la piel sin pelos, palma de las manos, planta de los pies, yema de los dedos, labios, punta de la lengua, pezones, glande y clítoris (tacto fino); de Krause, que generan la sensación de frío; de Puccini que dan la sensación de presión; de Ruffini, que registran el calor y de Merckel, (células de Merckel) del tacto superficial. La piel, como órgano barrera entre el exterior y el medio interno, está expuesta a numerosos agentes que las invaden y lesionan, como: bacterias, hongos, virus, parásitos, irritantes y sensibilizantes, luz solar o fuentes artificiales, carcinógenos etc. (Taylor , P. 1985).

Epidermis. Se compone en su mayoría por queratinocitos, que se encuentran segmentados en el estrato córneo, además de un factor importante que son los melanocitos o también llamados como los pigmentocitos, que dan la pigmentación a la piel y se encuentran justamente sobre el estrato germinativo. En la piel se pueden apreciar bajo cortes histológicos células de Langerhans y linfocitos, que se encargan de dar protección inmunológica, además de hallar a los mecanorreceptocitos o células de Merckel. El estrato germinativo se compone de una capa de células cilíndricas bajas o cúbicas con núcleos ovales; su citosol demuestra la presencia de tonofibrillas, además que las células de dicho estrato se relaciona por la unión desmosómica, además de anclarse a la membrana basal por uniones hemidesmosómicas. (Craww, C.; y col. 1984)

El estrato espinoso se conforma por células con forma poligonal, los núcleos son redondos y el citosol es de características basofílicas. Tiene un mayor contenido de tonofibrillas que las del estrato germinativo. Las prolongaciones del citosol se asemejan a espinas, por

lo que también reciben el nombre de células espinosas, justamente porque las tonofibrillas son más numerosas en dichas prolongaciones dando la forma de espinas.

El estrato córneo, formado por células planas queratinizadas anucleadas, también llamadas células córneas. Esta capa se distingue como la más gruesa y eosinófila. Está formado por hileras aplanadas y muertas que son los corneocitos, que están compuestos mayormente por queratina. Todos los días se eliminan capas de corneocitos, El estrato disyunto es la continua descamación de las células córneas. Las células que migran desde el estrato germinativo tardan en descamarse alrededor de 4 semanas. Esto depende de la raza y género, así como también de la especie cuando se estudia en animales. Cabe decir que la mayoría de los mamíferos comparte estas características estratales. Si la descamación es por menos de 2 semanas y por más de 4, se le considera patológico y puede deberse a alteraciones congénitas. (Brunton, J.; y col.1979)

Una de las funciones vitales de la piel es la de cubrir todo el cuerpo, es este órgano el encargado de la protección del cuerpo, respiración, pasaje de la luz, reconocimiento de patógenos, etc.

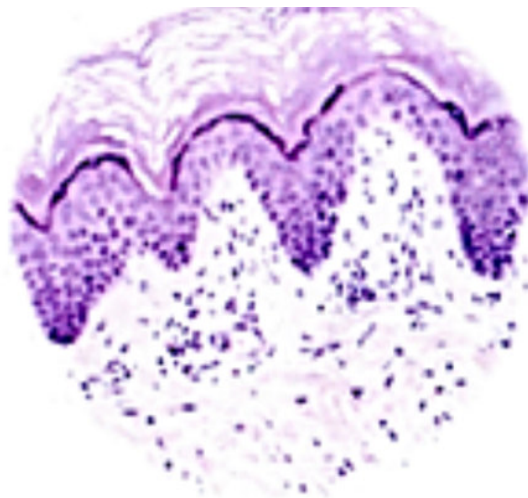


Figura N° 2:. Piel normal.

Suero fisiológico. Piel aparentemente sin alteración. 400x. lesión (0). Cicatrización (0)

Dermis. Es una capa profunda de tejido conjuntivo en la cual tienen la peculiaridad de la abundancia de fibras de colágeno y elásticas que se disponen de forma paralela y le dan a la piel la consistencia y elasticidad característica del órgano. Histológicamente se divide en 2 capas:

Estrato papilar: compuesto por tejido conectivo laxo, fibras de colágeno tipo III, y asas capilares. Estrato reticular: compuesto por donde se encuentran microscópicamente mastocitos, reticulocitos y macrófagos. En su porción inferior se observa una capa de músculo liso que conforma al músculo pilo erector. En la piel facial existe musculatura de tipo estriado en donde hay fijación de los músculos de la mímica en la dermis. (Ganong, W. 1998)

En la dermis se hallan los siguientes componentes: músculo, terminaciones Nerviosos aferente (que llevan información), glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas, vasos sanguíneos y linfáticos. La dermis es 20-30 veces más gruesa que la epidermis. En ella se encuentra los anexos cutáneos, que son de dos tipos: córneos (pelos y uñas); glandulares (glándulas sebáceas y sudoríparas).

La inflamación. Es la respuesta del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación puede producir: dolor, enrojecimiento, rigidez o pérdida de movilidad, hinchazón y calor, normalmente como respuesta reparadora; proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso cáncer (Katzung, B. 2010). Es un fenómeno fisiopatológico frecuente, cuya importancia radica en su función como mecanismo de protección contra el daño tisular producido por diferentes agentes, por lo que

constituye a menudo un mecanismo de defensa frente a infecciones, cuerpos extraños, daños traumáticos en los tejidos etc. En este sentido debe interpretarse como un proceso útil y deseable; sin embargo, en algunas circunstancias patológicas la inflamación es un fenómeno primario que no cumple un papel defensivo, sino que constituye un proceso lesivo en los tejidos donde se asienta, produciendo daños importantes y a menudo irreparable. En estos casos se debe intentar abolir o reducir el proceso inflamatorio (Llorens, P. 2006). El proceso inflamatorio puede producirse por estímulos infecciosos, físicos, químicos y traumáticos. Las células que participan son los neutrófilos, macrófagos, basófilos y los mastocitos, para que se originen la inflamación es necesario, el estímulo inflamatorio. En respuesta a este estímulo, se libera el ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana, luego se metaboliza por una de las dos vías principales: la vía de las prostaglandinas (vía de la ciclooxigenasa); dando lugar a los mediadores de la inflamación. La curación de la piel pasa por varias etapas, una de estas son los procesos de inflamación aguda los que son responsables de generar productos tóxicos conocidos como ROS. (Especies reactivas de oxígeno), (Rubin, E. Faber, J. 1990).

Irritación. La forma más simple de dermatitis irritante de contacto resulta de fricción prolongada, la irritación puede ser producida por diferentes agentes: físico, químico o biológico, la inflamación es una respuesta del tejido vivo vascularizado, a la lesión; en este proceso existe liberación de sustancias mediadoras como la bradiquinina, prostaglandinas, histamina y serotonina, que inducen la permeabilidad vascular. Los aspectos básicos que destacan en el proceso inflamatorio son:

- La focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor.
- La respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y por tanto inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica.

- El foco inflamatorio atrae células inmunes de los tejidos cercanos. (Morris, J.; y col.2002)

Calor. Se produce cuando la inflamación incrementa el aporte de sangre a través de los vasos dilatados y esto podría explicar el aumento de la temperatura. Por otra parte se ha comprobado un incremento del metabolismo en el tejido inflamado, ya que estos tejidos consumen más oxígeno.

Dolor. Dolor es un conjunto de mecanismo neurofisiológicos, experiencia sensorial y emocional desagradable, Podría ser producido por las sustancias que se liberan en el tejido inflamado tales como la 5-hidroxitriptamina y la bradiquinina que estimularían las terminaciones nerviosas. La pérdida de la isotonicidad de los fluidos corporales también puede explicar el dolor (la alteración del balance de sodio, potasio, calcio e hidrogeniones). La presión es un factor que produce dolor, esto se comprueba cuando se evacúan fluidos o pus de una lesión infectada, el dolor y la sensibilidad inmediatamente disminuyen. La tumefacción que se agrega en las lesiones más serias, y determinan la presencia de proteínas como fibrinógenos y depósitos de fibrina (Barutell, C.; y col. 2002).

El champú

El champú capilar es un preparado producto de la formulación de uno o varios tensoactivos con otras sustancias empleadas como coadyuvantes de las primeras, que tienen propiedades espumantes y emulsionantes que va a permitir eliminar la suciedad, como también los residuos provenientes de la secreción sebácea y sudorípara. Los controles que se deben practicar al champús, en general son

- Capacidad espumígena: respecto a la cantidad de espuma que produce.
- Valor de pH debe ser cercano a la neutralidad.
- Viscosidad, un champú con buen aspecto no debe de ser muy fluido.
- Prueba de estabilidad: debe permanecer estable al pasar el tiempo.

El champú sirve como vehículo para incorporar extractos vegetales y otras sustancias para la actividad protectora en la irritación sobre la piel de ratas. (Yatabe, Y. 2007)

La formulación de un champú debe contener

Detergentes

Son derivados sulfonados alcohólicos insensibles a la dureza del agua; deben ser neutros o débilmente ácidos; es el que le da la calidad de limpieza al cabello.

Tensoactivos

Son sustancias que hacen descender la tensión superficial de un líquido. La acción detergente del champú se halla íntimamente ligado a su poder emulsificante. La inmensa mayoría de los detergentes pertenecen al grupo de los tensoactivos, los cuales se caracterizan por tener capacidad de producir humectación, dispersión, penetración, emulsificación y detergencia, en determinadas condiciones para solubilizar sustancias normalmente insolubles. (Flick, E. 1969)

Suavizantes o engrasantes

Evitan el efecto propio de los detergentes sobre el cabello, otorgándole suavidad y docilidad. Estas sustancias se fijan sobre el cabello. Entre ellos tenemos: dietanolamida.

Viscosantes

Permiten regular la consistencia y propiedades del flujo, además de facilitar su aplicación. Como viscosantes se pueden emplear sales inorgánicas de metales alcalinos (cloruro de sodio, cloruro de amonio) y coloides hidrofílicos (metilcelulosa).

Colorantes

Tienen como finalidad mejorar la presentación del Champú

Conservantes

Es un producto de efecto antibacteriano y germicida. Entre ellos tenemos: propilenglicol, formaldehído, propilparabeno.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Tipo de estudio

Investigación de tipo observacional, cualitativo, prospectivo.

3.1.1. Diseño de estudio

Es una investigación de diseño experimental analítica realizada en los laboratorios del Departamento de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.1.2 Materiales y Método

Material botánico

Fueron empleados muestras secas de la corteza y brotes tiernos de la planta *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana) (anexo 1)

Material biológico

El material biológico estuvo constituido por 30 ratas (*Rattus rattus*) raza Holtzman 15 machos y 15 hembras, de dos meses de edad, peso promedio 142-100 g adquiridos del bioterio del Instituto Nacional de Salud-Chorrillos de la ciudad de Lima, conservados a temperatura ambiente con 12 horas de luz y oscuridad constante. Según el diseño experimental los animales fueron distribuidos en cinco grupos de seis animales cada uno, verde, azul, rojo, negro y rojo negro, los que recibieron diferentes concentraciones del champú 50, 250 y 500 mg/kg. champú comercial (pantenil etil éter) y control. (anexo 2)

3.2 Colección de la planta y preparación del extracto etanólico

La colección del material botánico se realizó en los meses de marzo a junio después de las lluvias; época en que la planta está en floración, aspecto importante para su clasificación taxonómica. Su colección se hizo en el sitio denominado tasta en el Distrito de Manta Departamento de Huancavelica (ubicado a 3700 msnm). Se colectó la planta en su estado silvestre (corteza y brotes tiernos) (anexo 3) y de tres a cuatro ejemplares con flores; luego fueron traídos para realizar la identificación botánica en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) (anexo 4)

La corteza y brotes tiernos recolectados se sometieron secado en estufa de aire circulante a una temperatura menor de 40°C durante cinco días para su secado respectivo. Se seleccionaron la corteza y brotes tiernos secos en buen estado realizándose luego la molienda en un molino de cuchillas hasta obtener una pulverización uniformizada. El producto seco y molido fue almacenado en un frasco de vidrio de boca ancha de color ámbar para su posterior preparación.

3.3 Técnica de extracción de los metabolitos secundarios de

Colletia spinosissima

Aproximadamente 450 g de polvo de la planta en estudio fueron macerados en 4000 mL de etanol químicamente puro de 96° durante ocho días, al amparo de la luz y el calor; luego se filtró la solución etanólica. Se concentró a sequedad en un evaporador rotatorio, obteniéndose el extracto seco en forma de cristales de color naranja (anexo 5) El extracto etanólico se utilizó para los ensayos fitoquímicos y para la preparación del champú experimental.

Ensayo fitoquímico preliminar del extracto etanólico

Se pesó 100 mg de extracto etanólico de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* y se realizó las reacciones de identificación o coloración por cada tipo de metabolitos secundarios presente, mediante la técnica de Miranda, y col.; 1992, en los resultados. Se indicó la presencia de metabolitos: 1mL de extracto con 4 gotas de reactivos y para la saponina se usó la prueba de espuma (cuadro 1)

Cromatografía en capa fina del extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima*

Se empleó el extracto etanólico total, placas cromatográficas en capa fina unidimensional ascendente de 20 x 20 cm, con fase estacionaria Sílica Gel G-60, fase móvil diclorometano y metanol en proporciones de 4:1. Se realizaron cinco siembras. Para el revelado se utilizaron los reactivos específicos, luz UV y vapores de amoníaco. Los metabolitos secundarios encontrados fueron separados (por raspado) para su empleo en la cromatografía en capa fina a escala preparativa.

Cromatografía en capa fina a escala preparativa

Se realizó para aislar, purificar y elucidar la estructura química de los flavonoides y se emplearon placas cromatografías de 20 x 20 cm, como fase estacionaria Sílicagel G-60 y fase móvil el sistema de solventes constituido por cloroformo – metanol en proporción de 4:1; después de realizar el ensayo los resultados del cronograma fueron observados en la luz UV y luego separados (por raspado) y disueltos con metanol absoluto, luego se filtró y las alícuotas obtenidas se emplearon en la elucidación estructural mediante espectroscopia UV-visible.

Preparación de base de champú (control)

Para el estudio de investigación fue necesario la base de champú para el grupo control, su elaboración en forma convencional.

Formulación

- a. Agua destilada 500 mL
- b. Lauril sulfato de trietanolamina 10 g
- c. Cetil trimetil cloruro de amonio 25%
- d. Alquilfenol etoxilado 0, 5 a 1%
- e. Propano - 1 diol (propilínglicol) 0, 200%

(Simmons, J. 2002)

Preparación

Se calentó 500 mL de agua destilada llevando a una temperatura de 70°C, se añadió los aditivos ya mencionados, homogenizando y dejando enfriar hasta 45 °C; la solución preparada tenía pH 7,5 por lo que necesitó ajustar el pH a 6,5 en ácido cítrico (anhidro) concentración 10%, se pesó 1 g para 5 mL de agua destilada, luego se agregó gota a gota con una pipeta de 5 mL a la mezcla preparada midiendo el pH con papel indicador de pH hasta conseguir el pH deseado de 6,5

Preparación del champú en el extracto seco de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* (tacsana)

El champú que se utilizó en la investigación se preparó en forma casi natural, no se utilizó otras sustancias como colorantes, fijadores, perfumes para que no interfiera en la actividad protectora sobre la irritación inducida en piel de ratas.

Champú I: 50 mg de extracto etanólico de *Colletia spinosissima*, se agregó el preparado de champú base hasta completar 100 mL

Champú II: 250 mg de extracto etanólico de *Colletia spinosissima*, se agregó el preparado de champú base hasta completar 100 mL

Champú III: 500 mg de extracto etanólico de *Colletia spinosissima*, se agregó el preparado de champú base hasta completar 100 mL

Preparación de los animales

Los animales fueron alojados en jaulas metálicas para su aclimatación previa a los experimentos, con libre acceso a agua y alimento. La temperatura ambiental fue de 22- 27 °C y 70- 80 % de humedad relativa con 12 horas de luz/oscuridad. Todas las manipulaciones de los animales se realizaron de acuerdo con los principios éticos para el uso de animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El CIEA está registrado en la Owa (Office of Laboratory Animal Welfare), con código A5146-01. (anexo 6)

3.4 Inducción de la irritación sobre la piel de ratas

Se evaluó el modelo experimental *in vivo* propuesto por Morris- Jones *et al* (2002), que es un método conveniente para determinar respuestas inflamatorias después de la irritación aguda a inductores físicos. Este modelo es considerado ideal para evaluar el efecto protector y grados de inflamación se han utilizado para determinar las características antiinflamatorias agudas a agentes tales como drogas y productos con efectos antiinflamatorios. (Goodman y Gilman. 2006).

Procedimiento

1. Después del periodo de ambientación de tres días previo ayuno de 8 horas, se procedió a realizar en ensayo.
2. Se anestesió a los animales de experimentación con lidocaína al 2 % (Gel) aplicada en la zona ventral de la rata.
3. Luego, de cinco minutos se procedió a la depilación en la zona ventral con crema depiladora opilca. (anexo 7)
4. Se indujo la irritación en el área depilada, friccionando con una baja lengua suavemente hasta conseguir la irritación adecuada.
5. Se realizaron mediciones el espesor de la zona inflamada en milímetros cada hora por tres horas, después de la inducción a la irritación.
6. Simultáneamente, los animales fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los grupos (5) y a cada animal se le aplicó, por vía dérmica, el champú de la corteza y brotes tiernos de *Colletia*

spinosissima por dos veces al día por 30 días, en la zona inflamada. (anexo 8)

Estudio anatomopatológico

Después de 30 días de tratamiento, se extrajeron muestras de tejidos de la piel de ratas, los cuales fueron fijados en (formol tamponado neutro) al 10% a Ph

7,0 incluidas en parafinas, cortadas con micrótopo a 5µm de espesor y coloreadas con hematoxilina eosina, para el estudio histopatológico. El análisis de los cortes se realizó con un microscopio de luz de campo claro. Las fotografías de la zona de interés se tomaron a 50x y 400x. Finalmente, los animales fueron eutanizados con sobredosis de éter. Para evaluar lesiones en la piel a nivel celular, como irritación inducida que fue tratada con el champú del extracto de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J, Gmelin (tacsana), en diferentes concentraciones. El estudio de los cortes donde (figura N° 2) se muestra con suero fisiológico, una piel sin alteraciones, lesión (0) cicatrización (0). Con planta 50 mg/kg de *Colletia spinosissima* toda la superficie de la piel se aprecia la queratina discontinua como se hubiese emulsionado (figura N°3) con planta de 250 mg/kg incluso se identifican ampollas intradérmicas y en muchas áreas hay pérdida de la epidermis por abrasión Sin embargo comienza a presentarse fibras colágenas que explican un proceso de recuperación de la lesión inflamatoria inicial. (figura N°4). Mientras con planta de 500 mg/kg se aprecia un empastamiento de la epidermis, con presencia de abundantes fibras colágenas y *que* hace referencia a un proceso de cicatrización inicial de la piel (figura N°5) y (anexo 9). Champú base (control) se muestra en la piel debajo de la capa córnea, presencia de abundantes células mononucleares y linfocitos, proceso compatible a inflamación (figura N°6). Champú comercial se muestra que persiste el proceso de inflamación, caracterizado por una hiperqueratosis superficial; debajo de la córnea, también existen células mononucleares y linfocitos abundantes (figura N° 7) Todas

las muestras fueron enviadas en envases de vidrios debidamente sellados en una solución de formol al 10% tamponada para ser evaluadas en el Instituto de Patología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza.

3.5 Evaluación de la actividad antioxidante *in vitro*. Ensayo de DPPH

El método empleado es con el ensayo de DPPH (1,1-Difenil-2-picrilhidracilo), expresado como IC₅₀, representa la concentración de una droga que se requiere para la inhibición del 50% (µg de extracto etanólico/mL). Este valor corresponde a la concentración del extracto que reduce en 50% la absorbancia de una solución metanólica de DPPH a 517nm con una absorbancia inicial de 0,600. Se usa como estándar el reactivo TROLOX (6-hidroxi-2,5,7,8-tetramethylchrman-2-carboxi acid). En la determinación de la capacidad antioxidante del extracto etanólico de *Colletia spinosissima* en 1ug/mL induce una reducción del radical DPPH 71,62% comparativamente a vitamina C. 27,35% referencial y el Trolox 66,93%. Se observa que la diferencia es significativa, siendo el extracto etanólico más activo que el control.

La evaluación de la actividad antioxidante se expresó como porcentaje se determinó de la siguiente fórmula (Brand, W.; y col. 1995).

$$AA\% = 100 \cdot \left\{ \frac{(Am - Ab) 100}{Acontrol} \right\}$$

Dónde:

AA% = Porcentaje de actividad antioxidante

Am = Absorbancia de la muestra

Ab = Absorbancia del blanco

La capacidad antioxidante *in vitro* es presentada en cuadros estadísticos descriptivos como la media, desviación estándar, intervalo de confianza, mínimo y máximo.

Análisis de datos

Para el análisis estadístico, los datos fueron agrupados y presentados en tablas, expresándose valores medios \pm error estándar; en un intervalo de confianza del 95%, porcentajes de eficacia y figuras que explican mejor los hallazgos. Se ha tenido en cuenta una $p < 0,05$ para considerar significativos los hallazgos. Se empleó la prueba de Kruskal-Wallis para establecer la significancia estadística del tratamiento los cálculos se realizaron con el programa estadístico SPSS, versión 21, año 2014.

IV. RESULTADOS

Clasificación sistemática de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana)

os de imagen



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

CONSTANCIA N° 020-USM-2004

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra botánica (hoja y tallo) recibida de la Sra. Beatriz Herrera Matos, ha sido estudiada y clasificada como: *Colletia spinosissima* J. Gmelin y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
ORDEN: RHAMNALES
FAMILIA: RHAMNACEAE
GENERO: *Colletia*
ESPECIE: *Colletia spinosissima* J. Gmelin

Nombre vulgar: "Tacsana"
Determinado por: Mag. Anunciación Cano E.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la interesada, para los fines que estime convenientes.

Lima, 16 de Marzo de 2004


Mag. Betty Millán Salazar
JEFA (a) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



BM

Cuadro N° 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de ***Colletia spinossissima J. Gmelin*** (tacsana)

Metabolito	Reactivo Utilizado	Extracto Etanólico
Saponinas	Espuma	++++
Esteroides	L. Burchard	++++
Taninos	Gelatina	+
Flavonoides	Shinoda	+
Alcaloides	Dragendorff	++
Alcaloides	Mayer	+
Carbohidratos	Molish	++++
Quinonas	Bortrânger	--

Leyenda:

(--) Ausencia

(+) Poca cantidad

(++) Regular cantidad

(+++++) Abundante cantidad.

Al término de la administración del champú conteniendo extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos ***Colletia spinosissima J Gmelin*** (tacsana), en diferentes concentraciones de 50, 250 y 500 mg/kg, aplicados 2 veces al día por 30 días, establecidos en (5) grupos (N°6) de ratas Holtzman se obtuvieron los resultados, que se presentan en (cuadro N° 2)

Cuadro N° 2. Eficacia antiinflamatoria del champú etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinossísima* sobre la irritación inducida

Tratamiento	Valor medio de inflamación (mL)	Porcentaje de eficacia antiinflamatoria	Relación al 100% del efecto	n
Normal	0,0	0	0	6
Pantenil etil éter	12,1	0	0	6
Extracto 50 mg/kg	10,2	8,0	50	6
Extracto 250 mg/kg	9,8	10,2	65	6
Extracto 500 mg/kg.	8,4	16,8	6	6

La eficacia antiinflamatoria obtenida es de 8,0, 10,2 y 16,8 respectivamente. Observándose un efecto dosis dependiente, lo que permite el cálculo de la dosis efectiva media.

Relación al 100% del efecto que existe con el porcentaje de eficacia antiinflamatoria ha demostrado la actividad protectora del champú etanólico de *Colletia spinosissima* en la irritación inducida sobre la piel de ratas.

Al realizar la observación microscópica en los cortes histológicos, se pudo apreciar que la concentración del extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinossísima* a 500 mg/kg tuvo los mejores resultados frente a las otras dosificaciones de 250 mg/kg y 50 mg/kg, así como el champú comercial “Pantenil etil éter” (Pantene) en el cual no se observó ninguna modificación. La histología de la piel tratada con *Colletia spinossísima*, mostró un tejido epidérmico regenerado y engrosado bajo la nueva epidermis con abundante tejido de granulación compuesto por capilares en formación, presencia de macrófagos abundantes y fibroblastos así como otras células en dermis. En cambio en el control y el champú comercial, la lesión inflamatoria permaneció sin reparación tisular.

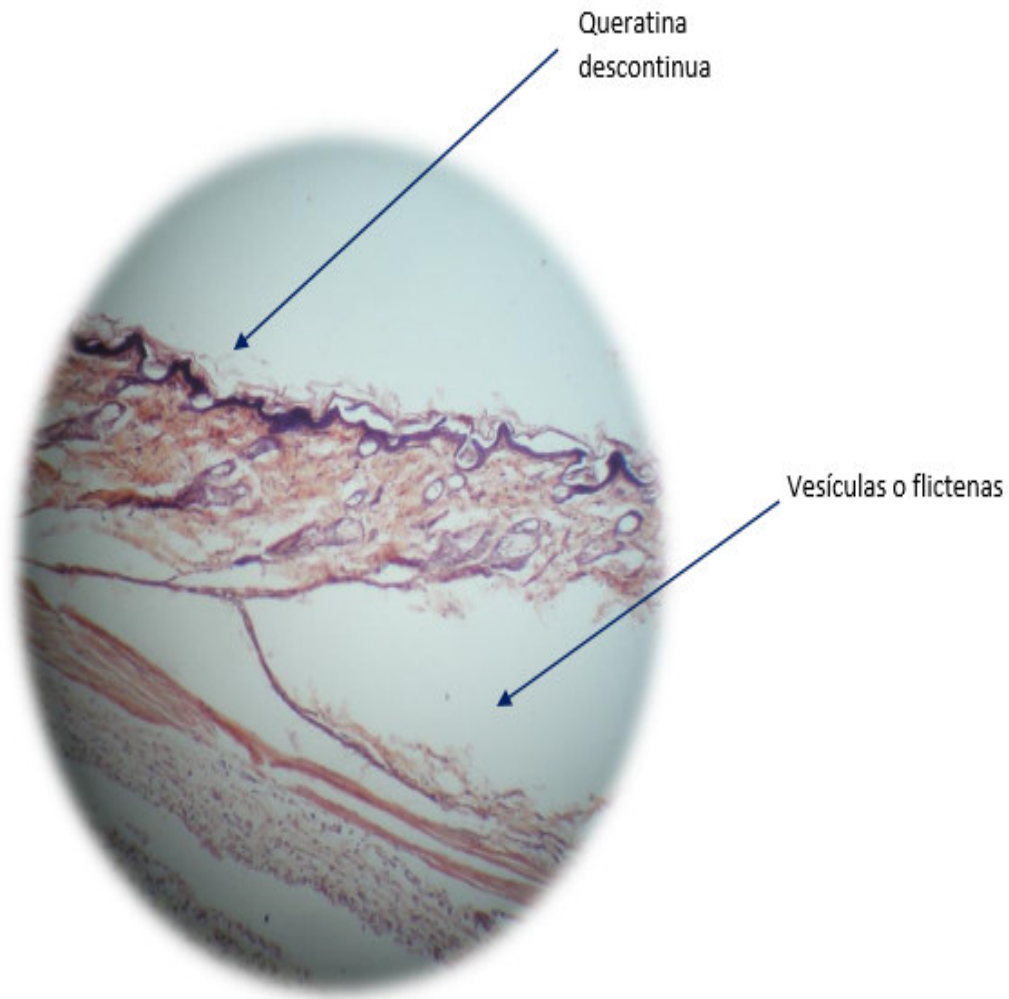


Figura N° 3. Corte histológico de la piel que recibió 50 mg/kg de champú *Colletia spinosísima*.

A concentración de: 50 mg/kg. En toda la superficie la queratina esta discontinua como si hubiese emulsionado. Hay separación de las costras que conforman la epidermis, formando vesículas o flictenas. 400x

Lesión (+)

Cicatrización (+)

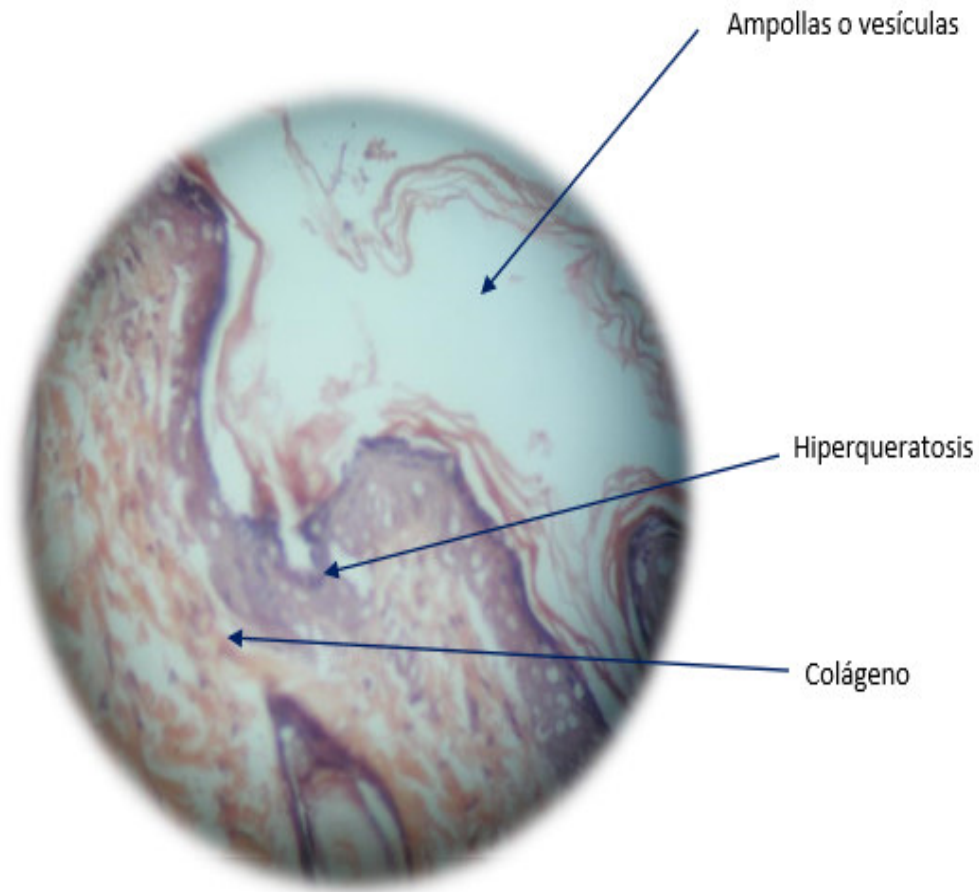


Figura N° 4. Corte histológico de la piel que recibió 250 mg/kg de champú de *Colletia Spinosissima*

A concentración de: 250 mg/kg. Capa superficial con adelgazamiento de la epidermis, incluso ampollas intradérmicas y en áreas hay pérdida de epidermis abrasión. 400x

Lesión (+)

Cicatrización (++)

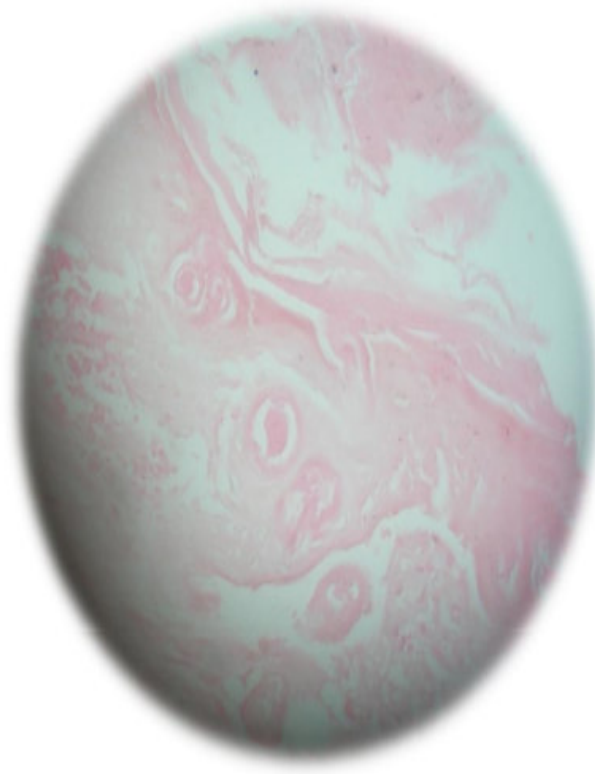


Figura N° 5. Corte histológico de piel que recibió 500 mg/kg champú de *Colletia spinosissima*

A concentración de: 500 mg/kg. Empastamiento de epidermis. La evolución es con presencia de colágeno (cicatrización inicial). 400x

Lesión (+)

Cicatrización (+++)

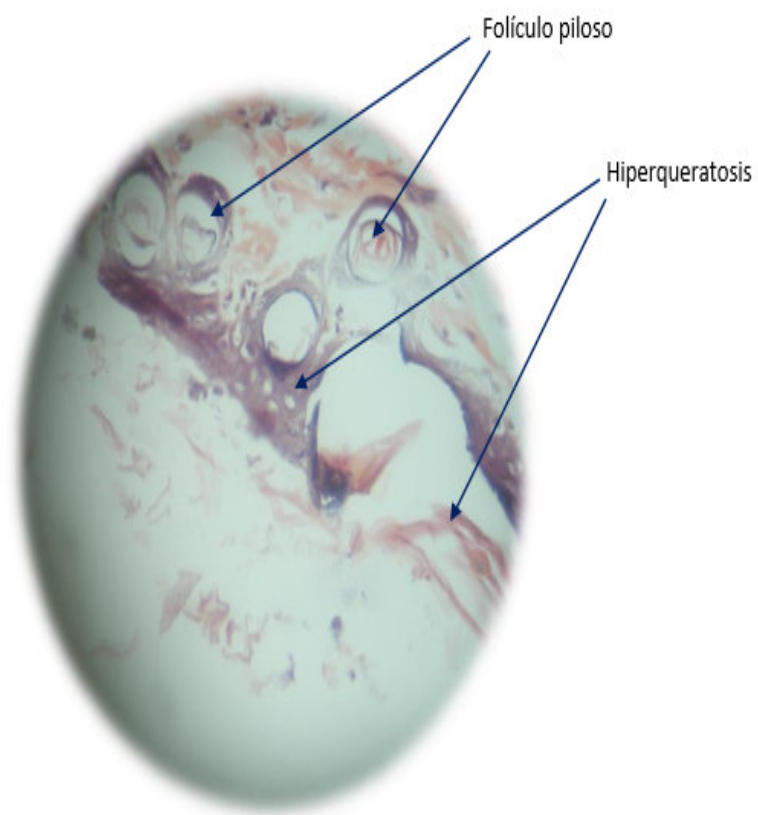


Figura N° 6. Corte histológico de piel que no recibió champú de *Colletia spinosissima* (control)

Control de lesión: Piel hiperqueratosis superficial, debajo de la capa cornea existe células mononucleares y linfocitos (inflamación). 400x

Lesión (+++)

Cicatrizante (0)

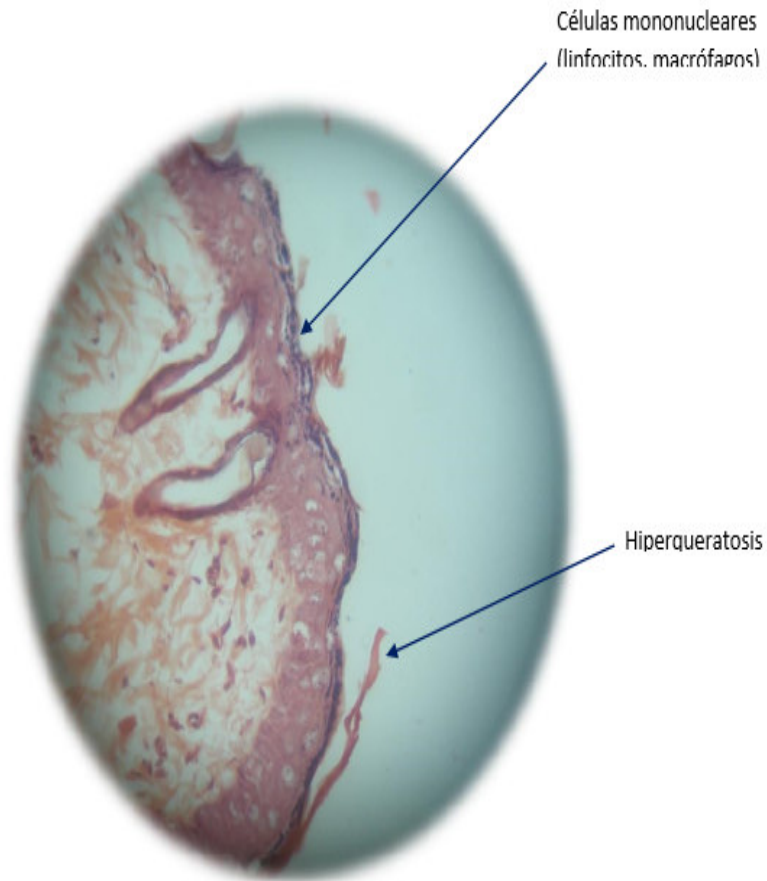


Figura N° 7. Corte histológico de piel tratada con champú comercial (Pantene)

Pantene: Piel con hiperqueratosis, debajo de la capa cornea existe células mononucleares y linfocitos (inflamación). 400x

Lesión (+++)

Cicatrización (0)

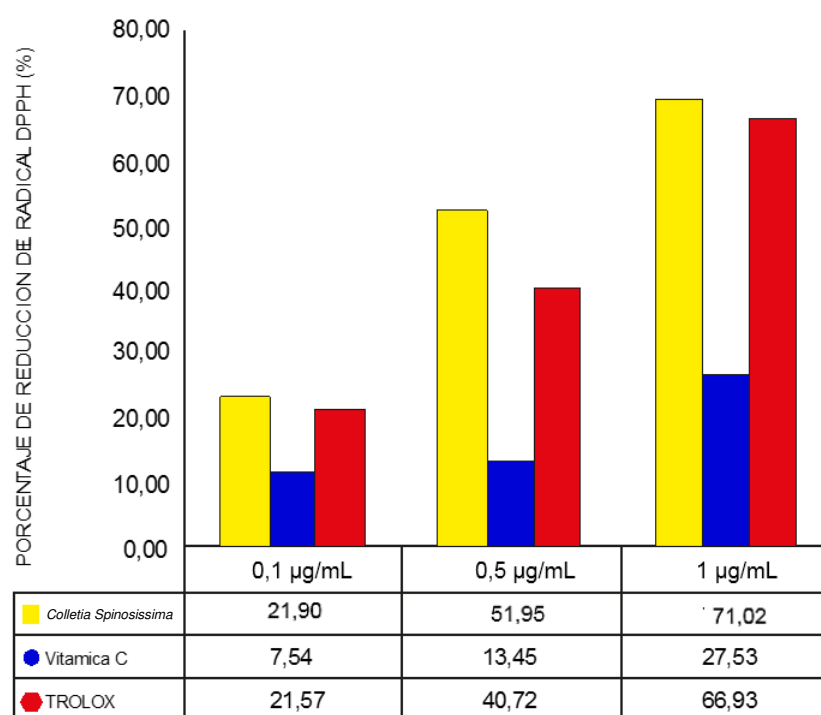


Figura N° 8. Comparación de la actividad antioxidante mediante El reactivo DPPH del extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima J.Gmelin* (tacsana)

En la determinación de la capacidad antioxidante del extracto etanólico de *Colletia spinosissima* y del trolox como patrón así como la vitamina C se usa en forma referencial en comparación de actividad antioxidante, se observa que la diferencia es significativamente alta con el método de evaluación del DPPH, siendo el extracto etanólico, más activo que el control a bajas concentraciones.

Cuadro N° 3. Estadística descriptiva se estudió peso y sexo de 30 ratas Holtzman

VARIABLE	Peso de animales (g)
Media	122
Mediana	119
Desviación típica	21,54
Mínimo	100
Máximo	142
Percentil 25	112,5
Percentil 50	119
Percentil 75	128,5
<i>Sexo de los animales</i>	
Machos	15
Hembras	15
Total	30

Fuente: Elaboración propia

4.5. Análisis estadístico

Según los análisis estadísticos de Wayne el peso medio de los animales fue de 122 g \pm 21,54, con un mínimo de 100 y un máximo de 142 g En cuanto al sexo de los animales se distribuyen en 50% para cada uno de los grupos.

En el presente estudio se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, para probar la hipótesis nula que afirma que 2 o más medias son iguales y así mismo determinar si es posible concluir que tres ó más tratamientos difieren en eficacia; dado que los datos presentes representan jerarquías.

Para evaluar el proceso de mejoría, obtenido con el champú de *Colletia spinosissima*, se midió la reducción del proceso de inflamación, en forma semanal y finalmente al término de la aplicación (Wayne, D. 2002).

Fórmula

$$H = \frac{\frac{12}{N(N+1)} \sum \frac{\sum R_c^2}{n_i} - 3(N+1)}{L}$$

El ajuste L se calcula de la manera siguiente

$$L = 1 - \frac{\sum (Li^3 - Li)}{N^3 - N}$$

Prueba de la hipótesis

- Hipótesis alterna (Ha). La protección de la piel y su recuperación después del proceso de irritación inducida, se muestra diferente en los tres grupos en uso de champú, la mejor protección de la piel, está dada por el champú III con un contenido de *Colleia spinosissima* de 500 mg/kg
- Hipótesis nula (Ho). No hay diferencias observadas en los tres grupos de champús, para tratar el proceso de inflamación inducida, los resultados se deben al azar.
- *Nivel de significación.*
Para todo valor de probabilidad igual o menor que 0,05, se acepta Ha y se rechaza Ho.
- *Zona de rechazo.*
Para todo valor de probabilidad mayor que 0,05, se acepta Ho y se rechaza Ha.

El estadístico H calculado de 12,21, se compara con los valores críticos de ji cuadrada. En seguida se busca en esa hilera la cifra de grados de libertad (4) hasta el nivel de significancia de 0,05 y se observa el valor 9,49, hasta los críticos 11,1 y 13,3, donde se encuentra el calculado. Esto quiere decir que la probabilidad de que exista una diferencia se halla a una probabilidad de error entre 0,025 y 0,01.

Como el valor estadístico H tiene una probabilidad menor que 0,025 y éste es menor que el nivel de significancia, se acepta Ha y se rechaza Ho.

Interpretación

Entre los champús de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* aplicados, existe diferencias significativas en cuanto a la recuperación de la piel de las ratas, de acuerdo a su concentración (50, 250 y 500 mg/kg). Champú que contiene 50 mg/kg se aprecia en el corte histológico la queratina discontinua, separación de capas que conforman la epidermis. Con el champú II que contiene 250 mg/kg se observa capa superficial con adelgazamiento con pérdida de epidermis, sin embargo comienza a presentarse fibras colágenas con proceso de recuperación de la lesión. El champú III que contiene 500 mg/kg fue el que mostró la mejor respuesta como antiinflamatorio y protector con los rangos más altos en la evaluación realizada, empastamiento de la epidermis con abundantes fibras colágenas y hace referencia a un proceso de cicatrización inicial de la piel. Champú base, se observa piel con hiperqueratosis, presencia de células mononucleares proceso inflamatorio. Con champú comercial persiste el proceso inflamatorio.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación buscó evaluar la acción protectora del champú de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana) sobre la irritación inducida en piel de ratas. Es necesario mencionar que el aporte científico que se ha obtenido como resultado del presente estudio dará a la población mayor seguridad en el uso de la especie vegetal como medicina tradicional o folclórica y, así mismo, queda abierta la posibilidad para la industria de las plantas medicinales de establecer su composición química y elaborar una presentación farmacéutica que garantice su uso terapéutico (Murota, K. 2003). Es así que el uso medicinal de las plantas, la fitoterapia, nunca ha dejado de tener vigencia; muchas plantas medicinales utilizadas por nuestros antepasados se siguen utilizando hoy en día. (Isaza, J. 2007)

La recolección de *Colletia spinosissima* se realizó en el mes de junio, en esta época de verano la planta está en floración, importante para la clasificación taxonómica de la especie, (anexo 4). Los extractos obtenidos por maceración contienen los principios activos no volátiles, o aquellos inestables al calentamiento, por lo que no se puede obtener mediante destilación. Se observa que el extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana) muestra una alta miscibilidad en etanol, agua destilada. (Parodi, A.1881)

El mecanismo celular y molecular de la inflamación, por irritación inducida, se relaciona con la producción de histamina, leucotrienos, factor activador de plaquetas y posiblemente la ciclooxygenasa, así como la liberación de otras sustancias mediadoras; además, la inflamación puede producir dolor, enrojecimiento, calor, rigidez y en otras situaciones transcurrirá a situaciones crónicas o enfermedad degenerativa como artritis, artrosis etc. (Katzung, B.; y col. 2010)

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana), confirma la presencia de

metabolitos secundarios como: saponinas, flavonoides, taninos, alcaloides, carbohidratos y compuestos fenólicos (cuadro 1). Se ha demostrado que las saponinas, triterpenos, flavonoides, taninos contribuyen al efecto protector debido a una inhibición de la prostaglandina en el proceso inflamatorio. (Ganong, W.1998)

Los saponósidos (saponinas) son heterósidos cuya genina o triterpénicas; Se conoce que las especies vegetales con saponinas triterpenoides son antiinflamatorias. (Bruneton,J.; y col.1979)

La aplicación de drogas que contienen taninos, por vía tópica, impermeabilizan las capas más externas de la piel, protegiendo así las capas internas; tienen también efecto vasoconstrictor. Al limitar la pérdida de fluidos e impedir las agresiones externas, los taninos favorecen la regeneración de los tejidos en caso de heridas superficiales. (Pengelly, A.1996). La curación de la piel pasa por varias etapas, una de estas son los procesos de inflamación aguda los que son responsables de generar productos tóxicos conocidos como ROS (Especies reactivos de oxígeno). (Konta, T.; y col. 2009)

Los flavonoides son compuestos químicos obtenidos del benzopiran a los que se ha atribuido efectos farmacológicos muy variados, entre estos: antiinflamatorios, antimicrobianos, antialérgicos, hepatoprotector, antitrombótico, antineoplásico, antiulceroso, antidiabético, diurético, antihemorrágico, expectorante y antiviral, muchos de los cuales se ha comprobado *in vitro*. (Hein, K.; y col. 2002)

Los resultados de la irritación inducida sobre la piel de ratas, demostraron que el champú de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* produce efecto antiinflamatorio sobre la piel de ratas (cuadro 2), evidenciado por el estudio histopatológico. (figuras 4 y 5), especialmente en la concentración de 500 mg/kg de extracto. Se aprecia empastamiento de la epidermis con evolución a un proceso de cicatrización inicial en la piel. (figura 5, anexo 9) Se realizó también un ensayo del extracto seco para

determinar sus propiedades físicas, químicas, aspecto, color, pH, viscosidad, observándose cristales de color naranja (anexos 3) y en contacto con el agua presenta abundante espuma, con un pH 5,5 valor cercano al pH normal de la piel, lo cual es importante para que no pueda causar irritaciones posteriores.

La presente investigación sirvió para demostrar que el champú de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* (tacsana) produce efecto protector en la irritación inducida sobre piel de ratas en condiciones experimentales y podría ser considerada como un producto natural de utilidad como coadyuvante en el tratamiento de la irritación en piel, no evidenciando reacciones de toxicidad.

VI. CONCLUSIONES

1. En condiciones experimentales se ha demostrado que el champú del extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* (tacsana) produce efecto protector, siendo mejor a concentración 500 mg/kg evidenciándose el efecto antiinflamatorio (50%), $p < 0,05$ y cicatrizante (50%) $p < 0,05$ en piel de ratas Holtzman. Comprobado mediante estudios histológicos de la piel. Posiblemente son responsables del efecto protector los taninos, flavonoides y saponinas. Estos metabolitos secundarios son antiinflamatorios.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos (tacsana) son saponinas, taninos flavonoides, alcaloides, carbohidratos, esteroides.
3. El extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* (tacsana), presentó actividad antioxidante “*in vitro*” mediante el método de reducción de radicales libres DPPH. A concentraciones 0,1µg/mL, 0,5µg/mL y 1µg/mL
4. El champú de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* (tacsana) administrado sobre la piel de ratas Holtzman no presentó reacciones alérgicas, A concentraciones 50, 250 y 500 mg/kg en comparación con el champú comercial (Pantene R).

VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackerman, B.; Toso, R. (2009). Comparación de la acción antiinflamatoria y analgésica del polvo de *Salpichroa organifolia* con aines utilizados en medicina veterinaria. Santa Rosa. Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF) UNL pam. General pico, La Pampa. p 86.
- Barutell, C.; y col. (2002) Tratamiento del dolor: Teoría y práctica. 2da. Ed. Barcelona. España Publicaciones Permanger, p 27-41
- Benavides, E.; Valdivia, E.; Rodríguez, B.; Neyra, L. (2009). Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estimulación de la proliferación de fibroblastos p.201
- Benítez, D. (2006). "Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo" Rev Cubana Invest Biomed v.25 (Nº 2) p. 28.
- Brack, A. (1999). "Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú" Cuzco: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casa. p. 45.
- Branch, L., Da Silva, I.M.F. (1983). "Folk Medicine of Alter do Chao, para Brazil". Acta Amazónica, v.13 (Nº 5) p 737- 797.
- Brand, W.; Cuvelier, M.; Berset, C.(1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity". Food Science and Technology. p 25-30.
- Brunton, L.; Lazo, J.; Parker, K.; Goodman y Gilman (1996) Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª Edición. México: Editorial Mc Graw – Hill In teramericana. p 201-214.
- Bruneton, J. (1979)."Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia". Primera Edición. Zaragoza. Editorial Acribas, p 105.
- Cabrera, A. (1953). "Manual de la Flora de los alrededores de Buenos Aires". Primera Edición. Buenos Aires Universidad Nacional de la Plata, p 106
- Céspedes, T.; Sánchez, D. (2000). "Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación". Rev. Cubana cardiología. 14 (1): 55-60.

- Colmenares, A. Ramírez, A. (2001). "Treinta plantas medicinales del valle de Cauca, fundamentos fitoquímicos y farmacológicos que sustentan sus usos". Cali:Feriva. p 49-50.
- Craww, C.; Stitz, R. (1984). "Farmacología Médica". México: Nueva Editorial Interamericana. p 201.
- Fernández, H.; y col. (1993). "Tamizaje de alcaloides y saponinas en plantas que crecen en Cuba" in Instituto de Ecología y Sistemática. Academia de Ciencias de Cuba. Cuba. p 182.
- Ferreira, R. (1979). "Sinapsis de la Flora Peruana". Primera Edición. Lima: Editorial Salesiana Lima. p 88.
- Flores R. (1997). "Atlas de plantas curativas y medicinales". Madrid: Ediciones Culturales S.A. p 182
- Flick E. (1969). "Cosmetic and Toiletry Formulations". Univ. Génova, Editorial Noye. Neal Jersef, p 464.
- García, L.; Rojo, D.; Gómez, L.; Hernández, M. (2002). "Plantas con Propiedades antiinflamatorias". Revista Cubana de Investigación Biomédica vol. 21 (Nº 3) p 214-216.
- Ganong, W. (1998). "Fisiología Médica". 16ª Edición. Ciudad de México: El Manual Moderno S A. p 358.
- Gauthier, G. (1984). "Isolation of Frankia from nodules of *Casuarina equisetifolia*" Acad. Paris. p.295.
- Giraldo, L.; Hernández, M.; Angulo, P.; Fuertes, C. (2003). "Actividad antinitrosativa y antiinflamatoria de los flavonoides de las hojas de *Uncaria tomentosa Willd* DC (uña de gato)". Lima: Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales. Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM. Rev.Sec.Quim, vol. 69 (Nº 3) p 229-242.
- Gmelin, J. (1791) "Clasificación Científica de Los Vegetales "Universidad de Tubinga, Alemania. p 201
- Gómez, H.; y col. (2011). "Actividad Antiinflamatoria de productos Naturales". Boletín Latinoamericano de Fitoquímica. Santiago de Chile. 10 (3), p 217.
- Goodman y Gilman, (2006). "Bases Farmacológicas de la terapéutica". 11a Ed .México: Mc Graw – Interamericana. p 1542 – 1545.

- Green, R. (2007). "Physicochemical properties and phenolics composition of selected askatchewan fruits: buffaloberry, chokecherry and sea buckthorn". [Tesis Doctoral]. Chenei. Universidad Saskachewan. p 41-49.
- Hein, K.; Tagliaferro, A.; Bobilya, D. (2002). "Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure–activity relationships". *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, p 572–584.
- Hertog, M.; Feskens, E.; Hollman, P.; Katan, M.; Ktromhout, D. (1993). "Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen Elderly Study". *Lancet* 34: p 1007- 1011.
- Hommond, G.; y col. (1998). "Traditional medicinal plants from callejón de Huaylas, departamento ancash, Perú. *J of Ethnopharmacology*.v. 43 (4) p. 17- 30
- Isaza, J. (2007). "Taninos o polifenoles vegetales" *Scientia et Technica*. Año XIII. p 33.
- Jain, S. (1991). "Dictonary of Indian Folk Medicine and Ethnobotany". Deep Publication. Nueva Dheli, p.72
- Kao, T.; y col. (2008). "Dermination of flavonoids, heterosides and saponis in gynostermma pentaphilum (thunb) Makino by liquid Chromatography-mass spectrometry" v.24 (9) *Analytica Chimica*. p 200- 211
- Katzung, B.; Masters, S.; Trevor, A. (2010). "Farmacología básica y clínica". 11^a edición. México: Editorial McGraw-Hill Interamericana. p 802.
- Konta, T.; Enes, M.; Karaphelivan, M.; Atakisi, E. (2009), "Is cape a therapeutic agent for Wound healing. *Journal of animal and veterinary advances*". p 6-11.
- Kruskal-Wallis (2014) *Bioestadística de la salud*, p 94
- Kuklinski, C. (2003). "Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural". Primera Edición. Barcelona: Editorial Omega A.S. p 32-41
- Kvist, L.; y col. (2001) "Estudio de plantas en la amazonia: una evaluación de ocho métodos etnobotánicas". *Folia amazónica*. Vol. 12 (1-2): p 63

- Litter, M.; (1986.) "Farmacología Experimental y Clínica". 7a Edición. Buenos Aires: Editorial el "El Ateneo". p 320-322.
- Llorens, P. (2006). "Plantas con actividades antiinflamatorias". Revista Cubana de Investigación Biomédica. Vol.18 (9) p 214-216
- Lock de Ugaz, O. (1994). "Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos Naturales". Lima: Universidad Católica del Perú. Fondo. Editorial. p 83,91.
- Lurssen, L. (2001). "Cuantificación de saponinas esteroidales en *Yucca elephantipes* (flor de izote)". Facultad de ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de San Carlos de Guatemala: p 94
- Martínez, A. (2001). "Saponinas Esteroides". Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. p 226.
- Miranda, M.; Cuellar, A. (1992). "Manual de Práctica de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales". La Habana: Editorial Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana, p.23, 33.
- Morris, J.; y col. (2002). "Dermatitis Caused by Physical Irritants". Institute Dermatology. British, p. 270-275.
- Mosquera, J.; col. (1996). "Farmacología para enfermería". 2da Edición. Madrid: Editorial MC Graw- Hill. p 186.
- Murillo, E.; y col. (2007). "Fitoquímica Guía metodológica para la detección rápida de algunos núcleos secundarios". Ibagué Universidad del Tolima, p 301.
- Murota, K. (2003). "Antioxidative flavonoid quercetin": Implication of its intestinal absorption and metabolism". Archives of Biochemistry and Biophysics. p 417.
- Osuna, L.; Tapia, M.; Aguilar, A. (2006). "Plantas medicinales de la medicina tradicional Mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico". Primera edición. Barcelona: Editorial Universal de Barcelona.4 (1): p 405.
- Pacheco, P. (1973). "Plantas que contienen saponinas triterpenoides". Revista Cubana de Investigación Biomédica.Vol.15 (7), p 101

- Palacios, P. (1997). "Plantas Nativas Medicinales". CONCYTEC medicamentos. 1ra. Edición, A y B. p 211- 213
- Parodi, A. (1881). "Características y propiedades de la saponina". Editorial Universal Chile. p.301.
- Pellegrini, N., y col. (2003). "Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. J Nutr. Vol. 33 (11) p 133.
- Pengelly, A. (1996). "The constituent of Medicinal Plants. 2nd. Ed. Editorial Cabi Publishing. U.K. p.78
- Pérez, A.; col. (2009) "Actividad Antioxidante del extracto hidroalcohólico de Cuatro Plantas Medicinales peruanas y Estimulación de la proliferación de Fibroblastos" Revista Científica. Vol. 5 (3/4): p 164-176.
- Planas, M. (1984). "Caracterización de la actividad biológica del alcaloide tospina del látex de *Croton lecheri*. (Tesis de Bachiller en Ciencias). Lima: U.P.C.H. p 95.
- Podsdek, J. (2007). "Natural antioxidant and antioxidant capacity of Brassica vegetables LWT"- Food Science and Technology. p 11-40.
- Taylor. P. (1985). "Agonista colinérgicos". En Goodman Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica. Sexta Edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana, p.105-113.
- Toso, R.; Toribio. M.; Menguelle, P.; Boeris, M. (1985). "Plantas de la provincia de la Pampa, Argentina, con actividad gastroprotectora y antiespasmódica". In Vet, Vol. 9 núm. 1, p. 145-151.
- Torres M. (2004). "Actividad antiinflamatoria prostática del extracto atomizado de la especie *Churinga spinosa lessing* "qariswi" en canis familiares". Tesis de Químico Farmacéutico-Ayacucho: UNSCH, p 38.
- Raimondi, A. (1999). "El gran libro de plantas medicinales". Segunda Edición. Milán: Editorial Everet, p. 390.

- Ramos, G.; Molina, C.; Ferreira, P.; Chávez, O. (2000). "Aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios bioactivos de *desmodium*" sp. manayupa. Inv. UNICA, p. 63.
- Ranelletti F., Ricci R., Larocca, L. (1992). "Growth-inhibitory effect of Quercetin and presence of type-II estrogen binding sites in human colon- cancer Cell lines and primary colorectal tumors". National Center Biotechnology Information.USA. p 486-492.
- Riemersma, R.; col. (2001). "Tea flavonoids and cardiovascular health" Am J Clin Nutr. Vol. 30 812), p. 94-277.
- Ríos, J. (2008) "Fitoterapia". Segunda Edición. Publicación de la Universidad de Valencia. p 292.
- Rook, E. (1988). "Tratado de Dermatología". Cuarta Edición. Madrid: Editorial Doima, p. 393.
- Rubin, E.; Farber, J. (1990). "Inflamación Patológica Estructural y funcional" 1era. Edición. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana S.A. p 402.
- Sakakibara,H.; Honda, Y.; Nakagawa, S.; Ashida, H.; Kanazawa, K.(2003). "Simultaneous Determination of All polyphenols in vegetables, Fruits, and Teas". J. Agric. Food chem. 51, p 571- 581.
- Sánchez J.; y col. (2001). "Propiedades antioxidantes de *Rhizophora mangle* (l.) y su relación con el proceso de curación de heridas en ratas. Rev Cubana Salud Animal. Vol. 14 (6), p 170-175.
- Sangrera, J. (1993). "Plantas Medicinales Enciclopedia de Medicinal Natural". Bogotá, Clambia, p 303
- Simmons, J. (2002). "Cosméticos: Formulación, preparación y aplicación". Madrid: Edición A. p 155.
- Soler, B.; Porto, M. (1997). "Experiencia cubana en el estudio y aplicación de medicamentos herbarios". Rev.Cubana de plant Med. 2(1): p 30-34.
- Soriano, M.; Bonilla, P.; Arroyo, J.; Pereyra, S. (2004. "Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed." Folia dermatol. Perú; 15 (3): 155- 159

- VanGinkel, A. (2003). "Apuntes del Máster y Diplomatura de posgrado de la UAB "Plantas Medicinales y Fitoterapia Módulo 2. Cultivo de plantas medicinales. Tecnología y producción". P 68
- Wayne, D. (2002). "Bioestadística. Bases para el análisis de la Ciencia de la Salud". Cuarta Edición. México: Editorial Limusa. p 37.
- Winter, C.; y col. (1962). "Carrageenin induced edema in the hind paw of the rat as assay for anti – inflammatory drug". Proc Soc Exp Biol Med. 3: 544- 547.
- Yamada, A; *et al* (1993). "Nitrogen fixation by Termites in Tropical forest, Thailand". Ecosystems, Faculty of Forestry, Kasetsart University. Bangkok. Thailand. p 75-83.
- Yatabe, Y. (2007). "Manual de guía de trabajo para la elaboración de preparados magistrales y oficinales.Chile. Editoriales Santiago de Chile, p 75.

VIII. ANEXOS

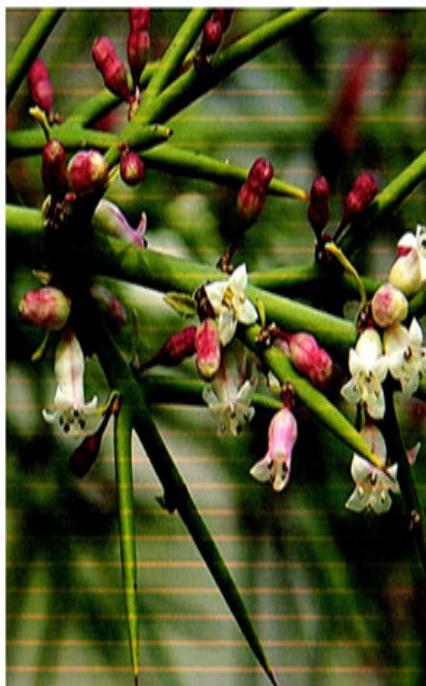
Anexo 1. Muestra seca de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima*
J Gmelin (tacsana)



Anexo 2. Peso y distribución de las ratas Holtzman al trabajo experimental

Champú I 50 mg/kg	Champú II 250 mg/km	Champú III 500 mg/kg	Ch. comercial	Control
Verde (gramos)	Azul (gramos)	Rojo (gramos)	Negro (gramos)	Rojo-negro (gramos)
126	132	118	116	117
130	132	120	122	113
135	120	124	114	106
142	127	118	112	142
131	130	117	110	100
122	135	118	112	122

Anexo 3. *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana)



Anexo 4. Clasificación taxonómica de la especie



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



CONSTANCIA N° 020-USM-2004

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra botánica (hoja y tallo) recibida de la Sra. Beatriz Herrera Matos, ha sido estudiada y clasificada como: *Colletia spinerosulcata* J. Griseb y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: RHAMNALES

FAMILIA: RHAMNACEAE

GÉNERO: *Colletia*

ESPECIE: *Colletia spinerosulcata* J. Griseb

Nombre vulgar: "Tacsana"

Determinada por: Mag. Anunciación Cano E.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la interesada, para los fines que estime convenientes.

Lima, 14 de Marzo de 2004



Mag. Betty Millán Salazar
JEFA (c) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



BMH

Anexo 5. Extracto seco de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (tacsana)



Anexo 6. Ratas Holtzman



Anexo 7. Depilación en la zona ventral con Opilca gel



Anexo 8. Realizando la aplicación del champú de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* (tacsana sobre la piel de ratas Holtzman



Anexo 9. Se observa un proceso de cicatrización inicial en la piel con el champú de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* 500 mg/kg (+++)

